



Contribuição para o estudo da dormência em pereira 'Rocha'

Brigite Simões de Matos

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agronómica

Orientadora: Doutora Mariana da Silva Mota Gomes

Doutor Miguel António Leão de Sousa

Jurí:

Presidente: Doutor Joaquim Miguel Rangel da Cunha Costa, Professor auxiliar do
Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutor Miguel António Leão de Sousa, Investigador auxiliar do Instituto Nacional
de Investigação Agrária e Veterinária, orientador;

Mestre Rui Manuel Maia de Sousa, Técnico Superior do Instituto Nacional de
Investigação Agrária e Veterinária, na qualidade de especialista

Tese de mestrado

2019

Agradecimentos

É com muito orgulho que termino este projeto, gratidão é a palavra correta para expressar o que sinto e senti ao longo deste estudo. Todo o apoio, motivação e carinho que me apresentaram ficará eternamente guardado. Assim, dedico esta tese, como forma de retribuir um pouco do tanto que me deram:

- À Doutora Mariana Mota por ter sido incansável comigo, tanto a nível de aprendizagem como de apoio, muito obrigada pela amizade, carinho e incentivo necessário para continuar em frente. Obrigada pelas conversas e pela paciência.

- Ao Doutor Miguel Leão por me ter convidado e cativado para querer estudar este tema. Todas as reuniões foram um incentivo e uma motivação para continuar e fazer o melhor. Consigo ganhar o gosto pela investigação agrónoma e conheci de perto a importância da ciência no setor agronómico. Obrigada por toda a simpatia e dedicação.

- Ao engenheiro Rui Maia de Sousa por me ter cedido a parcela para o projeto, por ter estado sempre disponível para ajudar no que fosse preciso, desde informação até à recolha de amostras, e por ter sempre uma palavra de conforto para dar.

- À Doutora Cláudia Sánchez e Filipa Queiros por terem sido sempre impecáveis comigo na cedência de material e na simpatia demonstrada.

- Às sempre prestáveis e amorosas engenheira Luísa e Dona Nídia que me ajudaram mais do que possam imaginar, inicialmente eram a minha grande ajuda no laboratório e por fim tornaram-se mais do que auxiliares, mas sim amigas e companheiras.

- Às colaboradoras (Nazaré, Anabela e Teresa) do INIAV de Alcobaça, que me fazem sentir em casa, obrigada por todo o carinho demonstrado ao longo dos meses.

- Aos meus colegas de laboratório obrigada pelo companheirismo.

- À minha segunda família, Mariana, Carlos, Sara, Telma, Catarina, Daniela, Véronique, Pedro, Tiago, Liliana e André por me terem estado sempre presentes nos piores e melhores momentos, foram um apoio e suporte para mim.

- Às minhas amigas Carina e Jéssica que, para além de estarem sempre presentes foram uma ajuda indispensável na colheita, sem elas não teria sido um dia tão divertido e o trabalho não seria concluído de forma tão eficaz.

- Aos meus pais, que sem eles seria impossível poder fazer este estudo, obrigada por serem o meu pilar incondicional, por me ouvirem e continuarem sempre a acreditar em mim, o vosso apoio foi fulcral.

- Ao Joel, obrigada por me teres apoiado incondicionalmente, por todas as conversas que tivemos, por me tranquilizares e por todos os sorrisos em mim despertados, não irei esquecer.

Resumo

A produção de pera 'Rocha' concentra-se em regiões como o centro litoral de Portugal, onde cada vez mais as 550 horas frio necessárias à cultura são insuficientes, não satisfazendo as necessidades fisiológicas da planta durante a dormência. Nestas condições, é importante o estudo de novas técnicas culturais que contribuam para ultrapassar a falta de frio, que leva a menor sincronização de quebra de dormência, menor regularidade de abrolhamento, vingamento, produção, e também menos problemas fitossanitários.

Foram testadas várias técnicas culturais relacionadas com desfolha química (Coppermix da Nutrisapec), poda e rega (Desfolha química 30 dias após a colheita – 15 de setembro de 2017; Desfolha química 60 dias após a colheita – 24 de outubro de 2017, Poda antecipada – 7 de dezembro de 2017; Poda normal – 30 de janeiro de 2018; Poda tardia – 26 de março de 2017; Dobro da dotação da rega e Corte da rega ambas iniciadas a 15 de setembro de 2017); analisou-se a intensidade de queda da folha, o teor hídrico, o SPAD, teores de amido, açúcares simples e proteínas solúveis em diferentes datas em ramos, folhas e gomos.

Os resultados obtidos apontam para que as modalidades envolvendo a técnica de desfolha tenham sido as melhor sucedidas em termos de entrada e saída de dormência e sincronização dos estados fenológicos, nomeadamente floração. Estas modalidades apresentaram também bom comportamento em termos de rendimento e qualidade de produção, nomeadamente as modalidades da vertente desfolha química e a modalidade 'Dobro da dotação da rega', sendo então estas as apontadas como as modalidades mais promissoras.

Palavras-chave: Horas de frio; sincronização; produção; floração; técnicas culturais.

Abstract

The production of 'Rocha' pear is concentrated in regions such as the Oeste region of Portugal, where chilling needs are often not fulfilled, as there are often less than 550 hours with temperatures below 7.2°C (between October and April). This fact originates that the physiological cold needs to break dormancy are not fulfilled and budbreak and subsequent plant evolution is delayed.

In these conditions, it is important to study new cultural techniques that contribute to overcome the lack of cold, which leads to less synchronization of dormancy, less regularity of budbreaking, fruitset and production. Several techniques regarding defoliation, pruning and irrigation were assayed (Defoliation 30 (15th of September 2017) and 60 days after harvesting (24th of October 2017), Early pruning (7th of December 2017), Normal pruning (30th of January 2018), Late pruning (26th of March 2018), Double irrigation and Irrigation interruption both at 15th of September 2017) and leaf fall, leaf relative water content, SPAD, starch contents, simple sugars and soluble proteins contents were analysed at different dates in branches, leaves and buds. The results show that the modalities involving the defoliation techniques were the most successful in terms of entry and exit of dormancy and synchronization of phenological states, namely flowering. These modalities also showed good behavior in terms of yield and quality of production, namely the 'Defoliation 60 days after harvest' modality, which is then indicated as the most promising modality.

Key-words: Chilling hours; synchronization; fruit production; flowering; cultural practices.

Índice

1	Introdução, contextualização do problema e objetivos	1
2	Revisão Bibliográfica.....	3
2.1	Pera 'Rocha' do Oeste DOP	3
2.2	Dormência	3
2.2.1	Terminologia.....	4
2.2.2	Fatores influenciados pela dormência.....	6
2.2.3	Fatores extrínsecos que influenciam a dormência	6
2.2.4	Fatores intrínsecos que influenciam a dormência	7
2.2.5	Fatores que influenciam a intensidade de dormência	9
2.3	Quebra da dormência	9
2.3.1	Fatores que influenciam a quebra de dormência	10
2.3.1.1	Fatores extrínsecos.....	10
2.3.1.2	Fatores intrínsecos.....	11
2.4	Modelos de dormência.....	12
2.5	Agrometeorologia – Horas de frio acumuladas	15
2.6	Influência das alterações climáticas nos processos de dormência e quebra de dormência	15
2.7	Enquadramento teórico dos materiais e métodos – determinações para a avaliação do estado de dormência.....	16
2.7.1	Determinações agronómicas	16
2.7.1.1	Determinação dos estados fenológicos	16
2.7.1.2	Soil Plant Analysis Development (SPAD)	17
2.7.2	Determinações laboratoriais	17
2.7.2.1	Teor Hídrico Relativo – RWC	17
2.7.2.2	Determinação de hidratos de carbono e proteínas solúveis totais.....	17
2.7.2.3	Quantificação de hidratos de carbono de baixo peso molecular– Teste da antrona	18
2.7.2.4	Quantificação de amido por digestão com amílase e amiloglucosidase	18
2.7.2.5	Quantificação de proteínas solúveis – Teste Bradford.....	18
2.7.3	Determinações de qualidade	18
2.7.3.1	Calibração.....	18
2.7.3.2	Sólidos solúveis – grau Brix (g de sólidos solúveis/ 100g de amostra)	19
2.7.3.3	Dureza	19
3	Material e Métodos.....	20
3.1	Apresentação do pomar.....	20

3.2	Modalidades do ensaio experimental	20
3.2.1	Vertente Rega	21
3.2.2	Vertente Desfolha	21
3.2.3	Vertente Poda de Inverno	22
3.3	Determinações fisiológicas e agronómicas	22
3.3.1	Soil Plant Analysis Development (SPAD)	22
3.3.2	Taxa de queda de folha	22
3.3.3	Determinação dos estados fenológicos	22
3.3.4	Taxa de vingamento	23
3.3.5	Crescimento de frutos.....	23
3.4	Determinações de produção e qualidade.....	23
3.4.1	Produção	23
3.4.2	Determinação da área de secção do tronco – AST.....	24
3.4.3	Distribuição por calibre	24
3.4.4	Análises de qualidade.....	25
3.4.4.1	Calibre e altura.....	25
3.4.4.2	Pesagem.....	26
3.4.4.3	Testes de maturação.....	26
3.4.4.3.1	Sólidos solúveis – grau Brix.....	26
3.4.4.3.2	Dureza.....	27
3.4.4.4	Quantidade de sementes – rudimentares e verdadeiras	27
3.5	Determinações laboratoriais	27
3.5.1	Teor Hídrico Relativo - RWC	27
3.5.2	Determinação de hidratos de carbono e proteínas solúveis totais.	28
3.5.2.1	Teste da hidrólise de hidratos de carbono – Teste da antrona (Chow e Landhausser, 2004)	28
3.5.2.1.1	Curvas de calibração	30
3.5.2.2	Teste digestão da amílase para deteção do amido.	30
3.5.2.3	Teor de proteínas solúveis- Teste Bradford (1979)	31
3.1	Tratamento de dados.....	32
4	Resultados e discussão	33
4.1	Horas de frio	33
4.2	Monitorização agronómica e fisiológica – pré senescência.....	34
4.2.1	SPAD.....	34
4.2.2	Teor Hídrico Relativo – RWC.....	36
4.2.3	Intensidade de queda da folha.....	36

4.3	Monitorização agronómica – pós quebra de dormência	38
4.3.1	Taxa de vingamento	38
4.3.2	Número de corimbos por árvore	39
4.3.3	Estados fenológicos.....	40
4.3.4	Crescimento de frutos.....	43
4.3.4.1	Crescimento de frutos e peso associado.....	45
4.4	Análises da produção	45
4.4.1	Produção	45
4.4.2	Peso médio unitário	48
4.4.3	Calibre.....	48
4.4.4	Análises de qualidade.....	49
4.5	Abordagens laboratoriais	51
4.5.1	Determinação de hidratos de carbono	51
4.5.1.1	Determinação de hidratos de carbono de baixo peso molecular com recurso à antrona	51
4.5.1.1.1	Órgão vegetativo: Folhas.....	51
4.5.1.1.2	Órgão vegetativo: Ramos	54
4.5.1.2	Quantificação de amido em folhas e ramos.....	57
4.5.1.2.1	Órgão vegetativo – Folhas.....	57
4.5.1.2.2	Órgão vegetativo – Ramos	58
4.5.2	Teor de proteínas – teste Bradford	60
4.5.2.1	Órgão vegetativo: Folhas	60
4.5.2.2	Órgão vegetativo: Gomos	61
5	Conclusão e perspetivas futuras	63
6	Referências Bibliográficas.....	66

Anexos

Índice de figuras

Figura 1 Inibição do abrolhamento durante o período de dormência (Faust et al., 1997).	6
Figura 2 Conversão temperaturas em unidades de frio (Richardson <i>et al.</i> 1974; Shaltout e Unrath, 1983: compilado por Faust, 1989).	14
Figura 3 Manipulação da rega, adicionou-se um tubo de rega, obtendo uma rega dupla (A e B); Obstrução do tubo de rega da linha 5 até à árvore 20 (C).	21
Figura 4 Medição dos 20 cm a cima do porta-enxerto (A); Diâmetro mínimo do tronco (B); Diâmetro máximo do tronco (C).	24
Figura 5 Fruta colhida (A); Calibrador manual (B); Calibragem (C).	24
Figura 6 Pesagem de uma categoria.	25
Figura 7 Exemplo de uma amostra de 10 peras de calibre 60/65mm de uma árvore.	25
Figura 8 Medição do diâmetro máximo da pera (A); medição da altura máxima da pera (B). Aparelho utilizado em ambas as figuras designado por paquímetro marca Wurth (0-150mm).	25
Figura 9 Balança de precisão Mettler PE 2000.	26
Figura 10 Refratómetro para medição do grau Brix.	26
Figura 11 Penetrómetro Fruit Pressure Tester modelo FT 327 com ponta de 5mm.	27
Figura 12 Utensílio auxiliar para corte dos discos de folhas com diâmetro de 1,4cm (A); folhas cortadas prontas a pesar (B).	27
Figura 13 Discos com 1,4cm de diâmetro (A); Discos humedecidos (B), ambos em placas de petri; Placas de petri com discos foliares após uma semana na incubadora a 100°C (C).	28
Figura 14 Reações de base do teste da antrona com a glucose (Petrica, 2018).	29
Figura 15 Diluições para curva de calibração com concentração de 200µL (A); e concentração de 20µL (B).	30
Figura 16 Na figura 16A estão representados os brancos (glucose e GOPOD); na figura 16B está um conjunto de cinco amostras. Soluções estão prontas a medir no espectrofotómetro a 510 nm.	31
Figura 17 Horas de frio acumuladas na parcela em estudo em Alcobaça durante o período de dormência.	33
Figura 18 Mapa de registos do 'Número de horas de frio (total de horas com temperaturas inferiores a 7.2°C) acumulado desde 01 de outubro (até 30 de abril) para fruteiras em Portugal Continental', calculado com base nos resultados da análise objetiva do modelo de previsão numérica do tempo – ALADIN (operacional no IPMA, I.P.). O mapa utiliza os limites distritais (IPMA, 2018). Marcou-se a verde a zona do concelho de Alcobaça.	34
Figura 19 Oscilações de SPAD por modalidade obtidas ao longo das medições.	35
Figura 20 Intensidade de queda de folha das cinco modalidades em vigor durante as datas de observação.	38
Figura 21 Crescimento dos frutos desde o vingamento até à data de colheita.	43
Figura 22 Estimativa do peso médio dos frutos e respetivo DAPF.	45
Figura 23 Número médio de frutos colhidos por árvore (kg) em cada modalidade; a laranja encontra-se a média obtida através dos valores da parcela.	47

Figura 24 Produtividade (kg/árvore), índice de produtividade (kg/cm ²) de cada modalidade e respetiva média das parcelas.	47
Figura 25 Oscilações dos hidratos de carbono em folhas ao longo da evolução da senescência; valores baseados nas médias das amostras analisadas em cada data de recolha.	52
Figura 26 Quantidade de g de glucose/g de matéria seca (folhas) ao longo do tempo.	53
Figura 27 Relação produção de hidratos de carbono no período pós colheita (2017) com a produção do ano 2018.	54
Figura 28 Oscilações dos hidratos de carbono em ramos ao longo da senescência e dormência até à fase de abrolhamento; valores baseados nas médias das amostras analisadas em cada data de recolha.	55
Figura 29 Quantidade de açúcares de baixo peso molecular em ramos.	56
Figura 30 Teor de amido em g por 100g de matéria seca em folhas ao longo do tempo	57
Figura 31 Aumento de amido nas folhas ao longo do tempo em cada modalidade.	58
Figura 32 Teores de amido em ramos desde a colheita até ao abrolhamento.	59
Figura 33 Quantidade de amido (g de amido em 100g de matéria seca – ramos) ao longo do tempo.	60
Figura 34 Quantidade de proteínas presentes nas folhas em duas datas de recolha de amostras.	61
Figura 35 Quantidade de proteínas presentes nos ramos.	62
Figura 36 Fotos de corimbos das árvores marcadas no pomar da Quinta Nova, e respetivo estado fenológico.	Anexo II.
Figura 37 Temperaturas - °C (média, máxima e mínima) entre setembro de 2017 a setembro de 2018.	Anexo V.
Figura 38 Radiação (KJ/m ²) entre setembro de 2017 a setembro de 2018.	Anexo V.
Figura 39 Precipitação (mm) entre setembro de 2017 a setembro de 2018.	Anexo V.
Figura 40 Percentagem de quantidade de frutos colhidos por calibre em cada modalidade.	Anexo VI.

Índice de quadros

Quadro 1 Médias dos SPAD's medidos em cada modalidade.	35
Quadro 2 Valores de RWC das modalidades em vigor a 6 de outubro de 2017.	36
Quadro 3 Valores percentuais de intensidade de queda da folha.	37
Quadro 4 Números de flores por corimbos e taxas de vingamento (os valores das médias e do desvio padrão são referentes aos valores observados nas 10 árvores por modalidade).	39
Quadro 5 Quantidade de corimbos média por árvore e produção potencial.	40
Quadro 6 Percentagem dos estados fenológica nas respetivas datas de observação.	41
Quadro 7 Data da prevalência dos estados fenológicos em cada modalidade.	41
Quadro 8 Fenologia desde o estado de botão branco até ao vingamento, a cinzento estão representados os dias de floração, a verde os dias em que as modalidades estiveram em plena floração e a azul o dia em que os frutos estavam maioritariamente vingados.	42
Quadro 9 Média dos dados meteorológicos referentes ao intervalo de datas de cada modalidade.	42
Quadro 10 Média dos diâmetros (mm) dos frutos previamente marcados em cada modalidade, medições executadas desde o vingamento até à colheita.	44
Quadro 11 Número médio de frutos por árvore e respetiva produção por árvore.	46
Quadro 12 AST média (5 árvores) e respetivo índice de produtividade de cada modalidade.	46
Quadro 13 Peso (kg) médio por fruta por modalidade.	48
Quadro 14 Percentagem de frutos por calibre em cada modalidade colhida.	49
Quadro 15 Quantidade de frutos colhidos por modalidade e calibre.	49
Quadro 16 Análises de qualidade dos 10 frutos recolhidos por modalidade com calibre 60-65mm.	51
Quadro 17 Médias obtidas (g de Glucose/ g de matéria seca), em todas as modalidades ao longo do tempo através do teste de antrona.	51
Quadro 18 Valores de hidratos de carbono (g de glucose/g de matéria seca – folhas) por modalidade ao longo do ensaio.	53
Quadro 19 Média dos hidratos de carbono (HC) (g de glucose/g de matéria seca – folhas) presentes no período pós colheita e respetiva produção do ano seguinte (kg/árvore).	54
Quadro 20 Médias dos valores obtidos, g de Glucose/ g de matéria seca (ramos), em todas as modalidades ao longo do tempo através do método do teste de antrona.	55
Quadro 21 Valores de hidratos de carbono (g de glucose/g de matéria seca – ramos) por modalidade ao longo do ensaio.	56
Quadro 22 Média de todas as modalidades em três datas diferentes em gramas de amido por 100g de matéria seca (folhas).	57

Quadro 23 Resultados estatísticos obtidos no programa R referentes à quantidade de amido (g) presente em 100g de amostra seca de folhas.	58
Quadro 24 Média de todas as modalidades em cinco datas diferentes em gramas de amido por 100g de matéria seca em ramos.	58
Quadro 25 Resultados estatísticos obtidos no programa R referentes à quantidade de amido (g) presente em 100g de amostra seca (órgão: ramos).	59
Quadro 26 Proteínas (miligramas de proteínas por gramas de matéria seca) presentes nas folhas nas datas referidas.	60
Quadro 27 Proteínas (miligramas de proteínas por gramas de matéria seca) presentes nos gomos.	62
Quadro 28 Dados meteorológicos dos dias de recolha de amostras.	Anexo IV

1 Introdução, contextualização do problema e objetivos

A Pera Rocha tem conquistado uma posição de destaque no mercado externo ao longo dos últimos vinte anos, sendo um produto exportado para mais de vinte países e para as cadeias de distribuição mais importantes e exigentes, como são o caso das inglesas (Sécio, 2014).

Ao longo dos anos foram-se registando algumas situações atípicas na produção da pera 'Rocha' que podem estar relacionadas com as alterações climáticas. O número de horas de frio no período invernal tem sido escasso e a sua acumulação inicia-se mais tarde. Esta tendência manifesta-se no comportamento das plantas e, consequentemente, tem repercussões na gestão da produção.

A falta de horas de frio manifesta-se numa saída de dormência escalonada que leva a uma dessincronização dos estados fenológicos, florações mais prolongadas, colheitas escalonadas e qualidade mais reduzida. Atualmente, para que os produtores consigam obter um produto de boa qualidade nestas condições, são necessários mais tratamentos, a colheita é feita em mais passagens (com acréscimo nos custos em mão-de-obra) e a conservação é mais difícil. Por fim, com o aumento de número dos procedimentos necessários à produção, esta tem-se tornado mais trabalhosa e mais onerosa.

A proibição de produtos indutores de quebra de dormência desencadeou graves problemas aos produtores. O Dormex® surgiu em 2004, era um produto comercial composto pela substância ativa cianamida hidrogenada, usada para a quebra da dormência. Tornou-se um sucesso na antecipação, sincronização e homogeneidade da floração. Porém, a 18 de março de 2010 o produto foi removido do mercado, com data limite de utilização a 18 de setembro de 2010 (DGAV, 2018).

Este estudo procurará contribuir para uma produção mais uniforme e sincronizada com vista a torná-la mais simples, eficaz e económica para o produtor.

A sincronização da produção é vantajosa no combate a doenças, (exemplo: fogo bacteriano), na gestão da colheita (realizada em menos passagens), na conservação do produto final (maturação mais homogénea) com reflexos na economia da exportação e na balança comercial.

De modo a tentar contribuir para melhorar a problemática apresentada, torna-se necessário compreender de que forma poderão ser introduzidas e geridas algumas medidas culturais, tais como a poda de inverno, a desfolha e a rega. Estas medidas podem afetar positivamente, ou até mesmo negativamente, processos fisiológicos da planta, mais precisamente a entrada e saída de dormência, assim como, a concentração da floração.

Este trabalho foca-se na implementação e avaliação de práticas que possam melhorar o processo de dormência, na gestão de medidas culturais de modo a antecipar e sincronizar a dormência, e os mecanismos fisiológicos subjacentes. O estudo realizou-se no pomar de pereira 'Rocha' da Quinta Nova, pertencente ao polo do INIAV em Alcobaça. Manipularam-se oitenta árvores de modo a avaliar alterações ao nível da rega, da queda da folha e da poda nas variáveis em estudo.

Em termos práticos pretendesse averiguar se a entrada sincronizada e controlada em dormência corresponde a uma saída de dormência concentrada e controlada, com menor variação fenológica e num período temporal mais reduzido. Procurou-se estabelecer métodos laboratoriais, práticos e simples, que permitissem aferir alguns processos em curso, para que numa segunda fase se possa atuar de forma expedita mais fundamentada na sincronização dos processos metabólicos e fisiológicos da planta. Estes métodos permitirão monitorizar o período determinante da produção anual, a dormência, garantindo eficácia relativamente aos fatores, horas de frio e reservas.

Dada a possibilidade da forma como a planta sai de dormência poder eventualmente estar relacionada com os níveis de reservas e sua mobilização, tentou-se a sua avaliação durante este período.

Os objetivos principais deste trabalho foram:

- a) Avaliar o efeito das operações culturais (rega, desfoliação e poda) na entrada em dormência e na quebra de dormência da pereira 'Rocha';
- b) Obter conhecimentos na área da dormência e formas de identificar este processo e monitorizar a sua dinâmica durante o período invernal;
- c) Perceber a relação dos fenómenos envolvidos na dormência com a localização e níveis de reservas nos órgãos vegetativos (gomos ou ramos e folhas) e o impacto das operações culturais nestas dinâmicas.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Pera ‘Rocha’ do Oeste DOP

‘A Pera Rocha do Oeste DOP – Denominação de Origem Protegida – tem o reconhecimento Comunitário como um produto tradicional, de qualidade, que faz parte integrante do Património Cultural Português’ (ANP, 2006).

Joaquim Matta, em 1926, apresentou a descrição morfológica da primeira planta de pereira ‘Rocha’ no 2º Congresso Nacional de Pomologia realizado em Alcobaça (Couto, 1979). Esta variedade autóctone de pereira teve origem numa semente ao acaso por volta de 1836 na ‘Fazenda do Rocha’, propriedade de Pedro António Rocha, situada na Ribeira de Sintra, concelho de Sintra-Portugal (Soares *et al.*, 2011).

A variedade de pereira ‘Rocha’ é da família das Rosáceas, subfamília das Pomóideas, género *Pyrus* e a espécie *Pyrus communis* L., ‘medianamente exigente em frio, necessitando de 550 horas de frio Invernal’ (ANP, 2009), abaixo de 7,2º C (Couto, 1979), entre 1 de outubro a 15 de fevereiro. O processo de floração ocorre durante o mês de abril e tem tendência para produzir frutos partenocárpicos (ANP, 1997).

A principal região da cultivar Rocha localiza-se no centro litoral de Portugal, onde o frio invernal anual necessário, por vezes, pode ser deficiente (De Melo *et al.*, 2005). Porém esta região beneficia da produção frutícola, devido à excelência técnica e profissional, que em conjunto com as condições edafoclimáticas, torna possível produzir fruta de alta qualidade com reconhecimento mundial. Portugal tem um clima próprio para a cultura desta cultivar, apesar de ser característico de um clima temperado é também influenciado pelo clima mediterrâneo e pela zona costeira (Pereira, 2015).

Ao longo dos anos, esta variedade de pereira tornou-se um sucesso devido à sua elevada capacidade de conservação, tanto em atmosfera normal, como a temperaturas de 0ºC – 1ºC, garantindo uma boa conservação durante 5 meses, como em atmosfera controlada onde a conservação pode chegar aos 8 meses (ANP, 1997).

2.2 Dormência

A pereira ‘Rocha’ é uma planta lenhosa de clima temperado, este tipo de planta apresenta diferentes inibições classificadas e definidas pelos seguintes grupos: a quiescência, corresponde à inibição resultante de condições ambientais; a inibição correlativa, mediada pela dominância entre diferentes partes da planta; e por fim, a dormência, uma inibição controlada através de um mecanismo presente na própria estrutura inibida (Chouard, 1956; cit. em Campoy *et al.*, 2011). Em 1985, Saure definiu estas inibições como dormência imposta, pré-dormência e dormência, respetivamente.

A dormência é um processo evolutivo e não uniforme capaz de proteger as fruteiras de folha caduca de climas temperados durante o período invernal, responsável pela adaptação fenológica da planta quando submetida a condições ambientais adversas (baixas temperaturas) (Faust, 1997). A adaptação refere-se à forma como as plantas conseguem sobreviver e reproduzir-se quando submetidas a um ambiente específico (Saure, 1985), assim os tecidos vegetativos são preservados, sem que a atividade fisiológica fique totalmente inibida (Campoy *et al.*, 2011). Este processo resulta da interação entre fatores ambientais e fatores intrínsecos à planta (Hawerth *et al.* 2010), que irão influenciar a atividade fisiológica e consequentemente o potencial do futuro desenvolvimento e do crescimento vegetativo (Campoy *et al.*, 2011).

No decorrer deste processo é importante que haja acumulação de frio por parte da planta para que ocorra floração e para que as espécies consigam adaptar-se a diferentes latitudes (Fadón *et al.*, 2018), assim, a quantidade e qualidade da produção será influenciada pela satisfação das exigências em frio acumuladas durante o período de dormência da árvore. A contabilização do número de horas de frio inicia a partir do dia 1 de outubro (IPMA, 2018). Para a compreensão deste processo requer-se uma compreensão profunda das respostas dos sinais fisiológicos durante uma época específica do ano, outono – inverno (Heide e Prestrud, 2005).

Durante este período os gomos tornam-se tolerantes a baixas temperaturas, permanecendo no mesmo estado fenológico (gomo dormente) mesmo quando expostas a períodos de flutuação térmica durante o inverno (Milke, 2015).

Estudos demonstram que os sinais de dormência afetam diversos processos fisiológicos, tais como, a biossíntese de flavonas, *stress* oxidativo e divisão celular (Campoy *et al.*, 2011).

2.2.1 Terminologia

Com já foi referido, a dormência não é um período uniforme, porém ocorre de forma gradual, trata-se de um desenvolvimento progressivo que tem início durante o outono e aumenta de intensidade até alcançar a dormência profunda (Lang *et al.*, 1987; Horikoshi *et al.*, 2018). Com a evolução dos estudos acerca deste tema, investigadores dividiram a dormência em três diferentes fases.

Lang *et al.* (1985), numa tentativa de padronizar e simplificar a classificação do processo denominaram as três fases de dormência por paradormência, endodormência e ecodormência, esta é a designação usada atualmente (Hawerth *et al.* 2010). Assim, os autores definiram a dormência como um processo adaptativo onde ocorre suspensão temporariamente do crescimento de certos órgãos vegetais (que contêm pelo menos

um meristema) e controle do crescimento devido às baixas temperaturas invernais (Lang *et al.* 1985).

A paradormência trata-se da primeira fase do processo de dormência inicia-se com uma inibição dos meristemas (florais e/ou vegetativos), este processo fisiológico é denominado por dominância apical (Lang, 1987). Por exemplo, esta situação ocorre quando não é possível visualizar o desenvolvimento dos gomos axilares situados por baixo dos gomos terminais; nesta fase, os gomos permanecem dormentes sob condições desfavoráveis, retomando o desenvolvimento quando o fator inibidor for suprimido (Hawerroth *et al.* 2010).

A endodormência é a ocorrência da dormência profunda, ocorre durante os meses mais frios do período invernal (Lang, 1987). A entrada em endodormência ocorre geralmente no fim do verão, porém esta data difere de espécie para espécie (ou até mesmo dentro da mesma espécie), uma vez que este processo está dependente às condições climáticas (Campoy *et al.*, 2011). Durante esta fase a planta sofre diversas alterações a nível bioquímico e fisiológico, que afetam diretamente os tecidos merismáticos e, por sua vez, ocorre uma inibição de crescimento dos gomos.

O período seguinte à endodormência (fim do inverno e início de primavera) designa-se por ecodormência, durante esta última fase a planta apresenta uma contínua inibição do crescimento vegetativo, limitando o crescimento e desenvolvimento vegetativo através de fatores extrínsecos à planta. Assim, as condições favoráveis ao desenvolvimento dos gomos, tal como a eficácia da planta em resposta ao aumento de temperatura serão garantidas (Vegis, 1964; Hawerroth *et al.* 2010; Milke, 2015).

Ainda, Faust *et al.* (1997) sentiram necessidade de dividir a endodormência em duas subfases: endodormência profunda (*'d-endodormancy'*) e a endodormência pouco profunda (*'s-endodormancy'*). A *d-endodormancy* ocorre logo após a paradormência, caracteriza-se pela inibição de crescimento dos gomos mesmo quando submetidos a estímulos naturais, por outro lado a *s-endodormancy*, determina a fase final da endodormência, esta fase é caracterizada pela substituição do efeito do frio através de tratamentos artificiais que auxiliem no processo de abrolhamento. Por conseguinte, a dormência começa com a paradormência, intensifica durante a *d-endodormancy* (fase inicial da endodormência), e no decorrer da *s-endodormancy* os gomos poderão responder a agentes responsáveis pela quebra de dormência, por fim termina com a

ecodormência, cuja duração e intensidade irão depender de fatores abióticos (Figura 1) (Faust *et al.*, 1997).

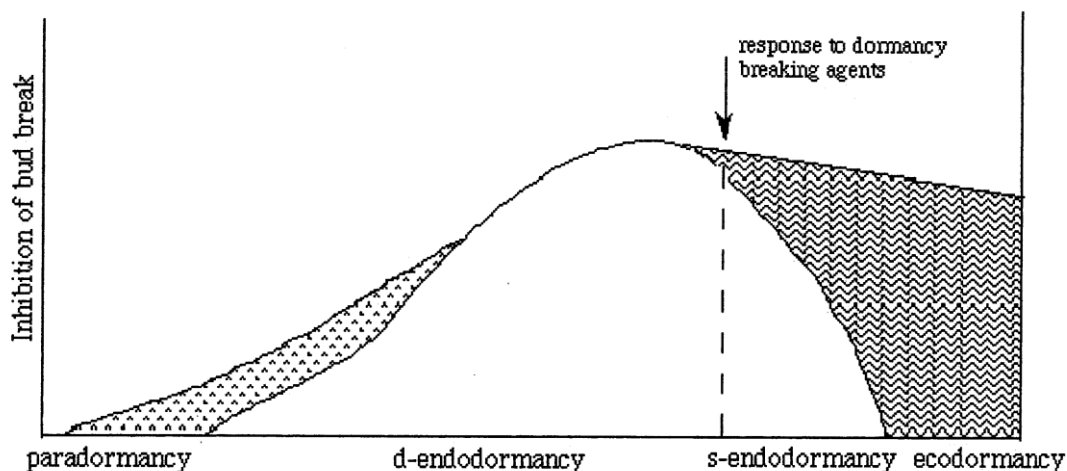


Figura 1 Inibição do abrolhamento durante o período de dormência (Faust *et al.*, 1997).

2.2.2 Fatores influenciados pela dormência

Durante a dormência é importante que a planta satisfaça as suas necessidades em frio para que ocorra crescimento e desenvolvimento vegetativo. A privação deste fator pode interferir negativamente em vários processos fisiológicos da planta, como é o caso do crescimento vegetativo, desenvolvimento reprodutivo, rendimento subsequente (Melke, 2015) e acumulação de reservas como é o caso do amido (Fadón *et al.*, 2018). As alterações das condições ambientais vão influenciar os processos fisiológicos, que, por sua vez, são responsáveis pela estagnação do crescimento vegetal e pela tolerância ao frio, determinando a sincronização do desenvolvimento vegetal (Hawerth *et al.*, 2010).

2.2.3 Fatores extrínsecos que influenciam a dormência

Tem surgido grande controvérsia, por parte de alguns autores, acerca do fator extrínseco com maior relevância na entrada de dormência; fotoperíodo curto ou baixas temperaturas.

Coville (1920) afirmou que árvores de folha caduca entram em dormência antes do frio invernal devido à diminuição da luz solar.

Após alguns estudos em espécies do género *Prunus*, Heide (2008) verificou que o efeito do fotoperíodo oscila consoante a temperatura.

Os fatores temperatura, luz e precipitação foram investigados em espécies do género *Malus* com diferentes exigências em frio. Hawerth *et al.* (2010) cita que Finetto (2004b) sugere que, em estudos relacionados com a dormência, a luminosidade e a

precipitação devem estar sempre relacionadas ao fator temperatura. A mesma premissa foi apoiada por Fennel *et al.* (2015), acrescentando que estes fatores extrínsecos têm a capacidade de estagnar o crescimento das plantas no fim do verão – início do outono (Hawerth *et al.* 2010).

Assim, após vários estudos sobre este tema foi claro entender que, para o sucesso deste processo, e para que ocorra cessação de crescimento das fruteiras, é fulcral que as plantas estejam expostas a uma diminuição da temperatura em simultâneo com a ação de fotoperíodo curto.

Temperaturas abaixo de 15°C ou 12°C (Faust, 1989) inativam o crescimento vegetal e induzem as plantas em dormência, por vezes sem que haja diminuição da luz solar (Hawerth *et al.* 2010).

Por sua vez, Olsen (2006) assegura haver inativação do crescimento, e posterior entrada em dormência, quando as temperaturas noturnas são inferiores às diurnas e com dias de curto fotoperíodo (Hawerth *et al.* 2010).

A diminuição do fotoperíodo funciona como um sinal, quando o fotoperíodo começa a encurtar, a folha (órgãos vegetais que detetam o fotoperíodo) emite sinais e o desenvolvimento dos ápices meristemáticos estagna (Hemberg, 1949; Wareing, 1956; cit. em Campoy *et al.*, 2011). Posteriormente, ocorre formação de escamas protetoras nos gomos que vão dar origem aos gomos invernais (dormentes) (Milke, 2015). Assim, ainda no final do verão os gomos entrarão em paradormência devido à redução do fotoperíodo (Faust *et al.*, 1997).

A redução do fotoperíodo irá influenciar a planta a nível fisiológico e bioquímico, preparando a planta para as condições invernais adversas, tornando-a mais tolerante (Li *et al.* 2004; cit. em Hawerth *et al.* 2010). Assim, a cultivar entrará nas primeiras fases de dormência antes que ocorra a aclimação ao frio por parte da planta (Campoy *et al.*, 2011).

2.2.4 Fatores intrínsecos que influenciam a dormência

Existem quatro fatores biológicos principais que influenciam diretamente a dormência, sendo eles o equilíbrio hormonal da árvore e dos seus órgãos vegetativos; o estado hídrico do gomo; a estrutura plástica das membranas, que influencia a resistência ao frio assim como o seu crescimento vegetativo; e por fim, a capacidade de síntese de hidratos de carbono a partir da fotossíntese e a síntese proteica, ou seja o potencial anabólico dos gomos. A perceção da interação destes fatores seria fulcral para chegar ao cerne da questão da dormência e da sua quebra (Faust *et al.*, 1997).

Alguns investigadores sugerem que a acumulação de frio por parte da planta tem início quando a árvore apresentar uma queda de folhas de 50%, afirmam também que a acumulação de frio só tem efeito quando o frio for persistente (Campoy *et al.*, 2011).

A atividade fisiológica da planta não se anula durante a endodormência, durante esta fase verificou-se um decréscimo no teor de aminoácidos na planta (Horikoshi *et al.*, 2018) devido à produção de um composto (peróxido de hidrogénio) capaz de quebrar a membrana lipídica, a síntese deste composto é estimulada por baixas temperaturas (Fadón *et al.*, 2018).

A planta adquiriu mecanismos fisiológicos de sobrevivência ao frio e ao período invernal. Assim, quando as folhas maduras sofrem uma rápida aclimação ao frio, o amido acumulado durante o verão é hidrolisado resultando num aumento em açúcares solúveis; esta reação química vai reduzir o teor de água nos vacúolos de forma a evitar que as folhas congelem (Hussain *et al.* 2016; Scheres *et al.*, 2017; Fadón *et al.*, 2018).

Estes resultados podem estar relacionados com as diferenças celulares das folhas maduras e primordiais. As folhas maduras são constituídas por células altamente vacuolizadas, enquanto as células primordiais são meristemáticas sem vacúolos e com um citoplasma denso, assim a disponibilidade de água é reduzida, apresentado pouca expressão de aquaporinas (Scheres *et al.*, 2017).

Com a investigação de Scheres *et al.*, 2017 concluiu-se que, durante a dormência, ocorre claramente acumulação de amido nos gomos aparentemente inativos; segundo estes resultados, os investigadores afirmam ficar tentados em correlacionar diretamente a insatisfação de frio com a acumulação de amido na planta.

Ao longo da dormência a quantidade de proteína tende a aumentar, o seu nível proteico atinge o máximo imediatamente antes da planta satisfazer as suas necessidades em frio. Este facto é muito importante para o sucesso do abrolhamento (Arnold e Young, 1990).

As fruteiras, quando não garantem as exigências em frio sofrem alterações significativas (negativas) nos teores de hidratos de carbono nos gomos florais e vegetativos (Hussain *et al.*, 2016), como é o caso do sorbitol. O teor de sorbitol aumenta na planta quando esta fica exposta a temperatura 0°C e 6°C. Julga-se que os hidratos de carbono nos tecidos dormentes são conservados sob a forma deste açúcar complexo (Ito *et al.*, 2013).

No pessegueiro algumas hormonas, como por exemplo a giberelina, respondem de modo diferente consoante a fase de dormência, Shim *et al.* 2014, analisaram a problemática e concluíram que esta regulação hormonal não é uniforme durante o processo de dormência. Ainda é desconhecido o mecanismo que mantém a planta em

dormência, mas existe a possibilidade de células do meristema serem isoladas de sinais que promovem o crescimento como é o caso das giberelinas (Shim *et al.*, 2014).

Porém, o papel das giberelinas e o significado sua exclusão do meristema, não é claro no retorno do crescimento, a aplicação desta hormona mesmo após a exposição ao frio não induz a divisão celular, ao contrario da auxina (Shim *et al.* 2014), todavia é uma hormona importante para a regulação da plasticidade celular (Scheres *et al.*, 2017).

2.2.5 Fatores que influenciam a intensidade de dormência

A intensidade e a forma como o processo de dormência se expressa vai influenciar o controle, a manutenção e produção de uma determinada cultivar (Hawerth *et al.* 2010). A intensidade de dormência é influenciada por vários fatores intrínsecos da árvore, são eles, o vigor, a idade da árvore, o porta-enxerto escolhido e, por fatores extrínsecos como o local onde foi plantada (Campoy *et al.*, 2011).

O vigor da árvore poderá ter influência pois, quanto mais vigorosa for a árvore, ou quanto maior for a área foliar, maior será a intensidade de dormência (Saure, 1985), como tal é possível executar algumas técnicas culturais cujo objetivo será diminuir o vigor (poda) (Campoy *et al.*, 2011).

As árvores mais jovens têm uma satisfação em frio mais eficaz (Campoy *et al.*, 2011). Os porta-enxertos têm características específicas que afetam o vigor das plantas, a data de floração e o abrolhamento (Finetto, 2004), têm também a capacidade de melhorar a qualidade dos frutos produzidos. A escolha de um porta-enxerto adequado pode ser chave para a superação das necessidades em frio em ambientes amenos (Hawerth *et al.* 2010).

Erez (2000), afirmou que o abrolhamento ocorre primeiramente em ramos horizontais devido à redução de vigor, resultado da curvatura dos ramos durante o período de crescimento vegetativo.

É conhecido que as reações da árvore relativamente ao vigor e à dominância apical são diferentes dependendo da época e o tipo de poda. Segundo a máxima anterior, Campoy *et al.* (2011) afirmam que a poda influencia a intensidade de dormência, acrescentando que, uma poda tardia minimizará o efeito de quebra de dormência dos gomos vegetativos.

2.3 Quebra da dormência

A quebra de dormência, tal como a dormência, é um processo progressivo consequência da prévia absorção das horas frio inverniais e horas de calor durante o início da primavera (Campoy *et al.*, 2011). Os primeiros dias de frio outonais são

essenciais para a intensificação da dormência, tanto que, a partir desse momento, as baixas temperaturas são fator crucial para efetividade da quebra de dormência (Campoy *et al.*, 2011).

Após a ecodormência, surge um aumento gradual da temperatura (início da primavera) capaz de estimular a atividade vegetativa dos gomos, ocorrendo a quebra de dormência de árvores caducifólias (Vegis, 1964; Milke, 2015).

Quando os órgãos vegetativos tiverem acumulado as horas de frio necessárias (característica da espécie) dá-se a quebra de dormência da cultivar (Takemura, 2014). A cultivar Rocha necessita acumular 550 horas de frio (temperaturas entre 0 e 7,2°C) para que a quebra de dormência e a floração sejam bem-sucedidas (Weinberger, 1950). Assim, garante-se a existência de uma relação entre a quebra de dormência e baixas temperaturas (Campoy *et al.*, 2011).

Após um período de frio, temperaturas moderadas (13 – 15°C) apresentam um efeito sinérgico, ou seja, têm a capacidade de acelerar substancialmente o processo de quebra de dormência (Campoy *et al.*, 2011). Temperaturas superiores a 18°C superam a acumulação de frio desenvolvendo mecanismos de crescimento, todavia este efeito depende do tempo de exposição das plantas a tais temperaturas (Erez, 2000). Quando as exigências em frio são satisfeitas, a atividade metabólica aumenta, as enzimas hidrolíticas são ativadas e as reservas de hidratos de carbono ficam mobilizadas de forma gradual (Melke, 2015).

A previsão deste processo é fundamental para conseguir avaliar a capacidade produtiva (Hawerth *et al.* 2010).

2.3.1 Fatores que influenciam a quebra de dormência

2.3.1.1 Fatores extrínsecos

Até setembro de 2010 era prática comum o uso de químicos para quebra de dormência (substância ativa: cianamida hidrogenada), no entanto, devido ao conhecido impacto negativo de tais substâncias na saúde humana, foi necessário recorrer a práticas culturais (Milke, 2015), tais como a rega, a fertilização e poda. Estas práticas culturais influenciam o crescimento vegetativo, atrasando a floração primaveril (Campoy *et al.*, 2011).

A homogeneidade do abrolhamento é consequência de um processo de quebra de dormência eficiente, processo que está diretamente relacionado com número de horas de frio adquiridas pela planta durante o período de dormência (Faust *et al.*, 1997). Campoy *et al.* (2011) afirmam que ciclos diários com temperaturas quentes (15 – 25°C)

durante o dia, alternadas com frias (5°C) durante a noite induzem um abrolhamento precoce.

Existem práticas culturais que poderão ajudar na estimulação do abrolhamento dos gomos florais. Por exemplo a execução de uma desfolha precoce das folhas, a irrigação após um período seco, ou até mesmo aplicação de agentes indutores de quebra de dormência (Campoy *et al.*, 2011).

No desenvolvimento de espécies lenhosas para uma produção economicamente viável é indispensável a sincronização da cultivar com o clima. Existem sinais abióticos que estão diretamente envolvidos nesta sincronização, são estes, o fotoperíodo, a qualidade da luz, a quantidade de água e a temperatura (Campoy *et al.*, 2011).

Durante o outono e o inverno, os dias frios e nublados são benéficos para a futura quebra de dormência em fruteiras de climas temperados (Hawerth *et al.* 2010). A fenologia da planta beneficia das temperaturas sazonais, mais precisamente, na primavera e inverno (Yu *et al.*, 2010), portanto, a falta de frio invernal pode resultar num atraso fenológico (Campoy *et al.*, 2011).

O efeito da precipitação ainda não está bem estudado relativamente à quebra de dormência, porém autores constataram que o aumento da precipitação melhorou o abrolhamento dos gomos. Colocaram aspersores durante o inverno e verificou-se que arrefecimento dos gomos através da rega favorece o abrolhamento, uma vez que, com o uso da rega durante a dormência ocorre redução da temperatura nos gomos, este efeito reduz as consequências promovidas pelo aumento da temperatura (Hawerth *et al.*, 2010).

Ainda, Westwood e Bjornstand (1978) reforçaram a última ideia e acrescentaram que, a ocorrência de precipitação durante o período invernal pode remover substâncias inibidoras presentes nos gomos, antecipando o abrolhamento e aumentando a quantidade de gomos abrolhados (Hawerth *et al.*, 2010).

Portanto, quando o processo de dormência sofre anormalidades (anos com pouco frio), o mais provável será a planta sofrer um atraso na quebra de dormência afetando diretamente a floração, assim a quantidade de flores e botões florais serão reduzidos, e por sua vez, também a quantidade de frutos irá sofrer um decréscimo (Jackson *et al.*, 1983).

2.3.1.2 Fatores intrínsecos

Segundo Costes *et al.* (2006) também a poda influencia a quebra de dormência. Consta que, tanto a data de poda como a severidade podem desempenhar um papel crucial na síntese e distribuição dos fotoassimilados, estimulando a repartição de reservas essenciais no crescimento de folhas e no abrolhamento.

Campoy *et al.* (2011) citam Erez (1982) relativamente ao efeito benéfico no processo de quebra de dormência quando utilizado um desfolhante no início do outono. Ao aplicar um desfolhante o abrolhamento dos gomos poderá ter um efeito evidenciado, principalmente se for aplicado antes dos gomos entrarem em endodormência (Campoy *et al.*, 2011).

Contudo, a fisiologia da planta durante a dormência e a quebra de dormência está diretamente relacionada com as hormonas, fitocromos e hidratos de carbono, que irão ser responsáveis por muitas alterações fisiológicas da cultura (Chao *et al.*, 2007).

Os açúcares solúveis são moléculas muito importantes nas diferentes fases de desenvolvimento da planta, durante a quebra de dormência ocorre um maior gasto de açúcares solúveis, principalmente durante o abrolhamento, do que durante a dormência. O mesmo sucede com o amido, a sua concentração, principalmente nos gomos dormentes, apresenta-se elevada, no entanto há diminuição do teor de amido em todos os tecidos, maioritariamente, nos gomos florais durante a quebra de dormência (Hussain *et al.* 2016).

Hussain *et al.* 2016 observaram que quando a planta apresenta concentrações estáveis de amido e, de rompante, degrada uma grande quantidade de açúcares solúveis, ocorre um aumento da atividade metabólica e da percentagem de abrolhamento.

Os efeitos do porta-enxerto sobre a dormência são influenciados pelas raízes, estas são uma fonte importante para a síntese de reguladores de crescimento, como é o caso das citocininas (hormona indutora de abrolhamento) (Hawerroth *et al.* 2010). Se os níveis de citocinina forem elevados na planta poderá ocorrer um abrolhamento antecipado (Erez, 2000).

2.4 Modelos de dormência

Os modelos de dormência relacionam o comportamento fenológico vegetal com dados climáticos da zona em estudo. Existem diversos modelos que explicam a ligação entre o processo de quebra de dormência e temperatura invernal (Hawerroth *et al.* 2010).

É importante que se saiba qual o período de acumulação de frio e o momento em que a cultura satisfaz as exigências em frio, com estes dados é possível determinar as necessidades em frio e quantificar o frio disponível num determinado local para uma determinada cultivar (Campoy *et al.*, 2011).

O acompanhamento do desenvolvimento das plantas e respetivas respostas às condições ambientais têm sido alvo de vários estudos. Alguns investigadores desenvolveram métodos de avaliação da progressão da dormência, porém, Samish e

Lavee (1962), destacaram a falta de padronização destes, o que dificultava a comparação de resultados provenientes de diferentes autores, espécies e locais.

Os modelos estudados até à data explicam a superação da dormência, mas não explicam os mecanismos fisiológicos a ela subjacentes (Campoy *et al.*, 2011).

Weinberger (1950) criou um modelo de dormência que consiste na quantificação do frio acumulado por parte da planta, recorrendo ao somatório das horas a que a planta esteve exposta a temperaturas iguais ou inferiores a 7,2°C desde 1 de outubro até 15 de fevereiro. Este modelo, atualmente, ainda é bastante utilizado, muito devido à sua simplicidade e facilidade (Hawerth *et al.* 2010), tendo sido usado neste estudo e, também é o modelo adotado pelo Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA).

Chandler *et al.* (1937) e Lamb (1948) declararam que temperaturas entre 0 – 7,2°C apresentam maior efetividade na acumulação de frio em árvores de folha caduca durante o período invernal. Erez (1985) constatou que temperaturas acima de 7,2°C influenciam a quebra de dormência, assim houve a necessidade de perceber melhor como é que um processo regulado por alterações bioquímicas pode estar relacionado com uma temperatura. Deste modo levantaram-se questões, e surgiu a necessidade de criar novos modelos que consigam relacionar a temperatura do ar com a quebra de dormência (Hawerth *et al.* 2010).

Os pioneiros do modelo da unidade de frio foram os investigadores Erez e Lavee (1971), que sentiram necessidade de criar este conceito para poderem relatar a eficácia diferencial relativamente às diferenças de temperatura a que os gomos estão expostos (Faust, 1989). Richardson *et al.* (1974), aperfeiçoaram o conceito, e investigaram o papel das horas de frio antes da quebra de dormência e, numa segunda fase deram relevância à acumulação de horas de calor, desenvolvendo modelos úteis para prever a data de floração e o fim da endodormência de diversas árvores de fruto (De Melo *et al.*, 2005; Faust, 1989).

De acordo com as determinações dos autores do modelo da unidade de frio as temperaturas entre 2,5°C e 9,1°C são as unidades de frio ótimas, as temperaturas nos intervalos 1,5°C – 2,4°C e 9,2°C – 12,4°C consideram-se as temperaturas de efetividade reduzida, temperaturas abaixo de 1,4°C ou entre 12,5°C – 15,9°C não representam nenhuma efetividade (Figura 2). Neste modelo considera-se que a quebra parcial de dormência ocorre quando a temperatura é de 16°C, e está em plena quebra de dormência a partir dos 18°C (Faust, 1989).

Temperature (°C)	Chill Unit
1.4	0
1.5– 2.4	0.5
2.5– 9.1	1.0
9.2–12.4	0.5
12.5–15.9	0
16.0–18.0	–0.5
18.1–21.0	–1.0
21.1–23.0	–2.0

Figura 2 Conversão temperaturas em unidades de frio (Richardson *et al.* 1974; Shaltout e Unrath, 1983: compilado por Faust, 1989).

Após inúmeras investigações destacaram-se dois modelos, Utah e Carolina do Norte, que se baseiam na acumulação de unidades de frio, todavia estes modelos são relevantes para climas amenos onde existe interrupção do inverno por parte de temperaturas mais altas (Faust, 1989), não são adequados a culturas mediterrânicas (Campoy *et al.*, 2011).

Em Portugal, a principal região de cultivo de pera 'Rocha' é no centro litoral, cujo ambiente invernal não é suficientemente frio. Com base na informação citada anteriormente desenvolveu-se um modelo específico para a previsão da data de floração de pera 'Rocha', cujo objetivo era apresentar e avaliar um modelo que preveja a data de floração através das exigências em frio necessárias à quebra de dormência. Para o desenvolvimento deste modelo foi necessário observar as datas de floração de pera 'Rocha' durante dez anos (1963-1972) em Alcobaça, Portugal. Da base de dados obtida, metade dos dados serviram para calibrar o modelo e os restantes para autenticar o modelo (De Melo *et al.*, 2005).

De Melo *et al.* (2005) apresentaram dados estatísticos onde demonstravam que este modelo é útil na previsão da data de floração, tendo sido observado uma pequena margem de erro relativamente aos modelos Utah e horas de frio. Este modelo pode ser vantajoso para antecipar a data de floração noutros locais e ambientes, assim como para obter previsões mais realistas para o atual problema ambiental, o aquecimento global.

Por fim, investigadores afirmam não haver ainda modelos universais capazes de prever com precisão o momento da quebra de dormência da planta (Hawerth *et al.* 2010), uma vez que a maioria dos modelos existentes apenas consideram o fator temperatura, deixando de parte fatores importantes tais como, a luz e a precipitação (Finetto, 2004).

2.5 Agrometeorologia – Horas de frio acumuladas

Segundo o Instituto Português do Mar e da Atmosfera, a acumulação de horas de frio equivale ao total de horas com temperaturas inferiores a 7,2°C acumuladas desde 1 de outubro até 30 de abril para fruteiras em Portugal Continental, atualizado diariamente às 8:30 UTC (tempo universal coordenado).

Estes são calculados com base nos resultados da análise objetiva do modelo de previsão numérica do tempo – ALADIN (operacional no IPMA, I.P.).

2.6 Influência das alterações climáticas nos processos de dormência e quebra de dormência

Desde há 1200 anos que as alterações climáticas estão a decorrer a um ritmo sem precedentes, e atualmente as temperaturas da Terra são mais elevadas. O aquecimento global está a ocorrer de uma forma muito repentina, principalmente em latitudes polares (Campoy *et al.*, 2011).

‘Entre 1971 e 2000 o avanço médio da primavera e do verão na Europa foi de 2,5 dias por década’ (Campoy *et al.*, 2011). A floração atual começa aproximadamente 10 dias antes e é mais longa do que há 50 anos, ou seja as alterações climáticas têm influenciado as estações do ano, nomeadamente a fase primaveril de inúmeras espécies (Campoy *et al.*, 2011) e o aquecimento irá continuar a aumentar nos próximos anos.

Sendo a maioria das cultivares fruteiras perenes de vida longa, as condições climáticas devem ser adequadas por um longo período de tempo, genericamente mais de 25 anos (Campoy *et al.*, 2011). As cultivares fruteiras de climas temperados podem estar em risco devido às mudanças climáticas dos últimos 50 anos. Apesar da dormência ser um mecanismo de adaptação fenológica da planta, quando exposta a condições climáticas adversas, essas mudanças podem influenciar o ciclo de dormência e a fenologia geral da planta, sofrendo consequências negativas (Campoy *et al.*, 2011).

Ao longo dos anos algumas variáveis foram-se alterando, uma delas foi redução de horas de frio em várias zonas da Terra. Este fator em conjunto com as condições climáticas a que a cultivar está sujeita resultam no fracasso do processo de quebra parcial da endodormência (Campoy *et al.*, 2011).

São inúmeras as áreas que carecem de condições climáticas favoráveis à quebra de dormência, os problemas recaem sobre a inadequação da cultivar à área, ou à irregular acumulação de frio registada anualmente, e, como consequência a produtividade e a longevidade das produções são afetadas de forma desfavorável. A fenologia fornece informações importantes acerca do aquecimento global, a resposta fenológica por parte da planta ocorre como consequência da adaptação de fruteiras a

climas amenos durante o inverno. Especula-se que o aquecimento global tem efeito sob a fase de ecodormência, reduzindo-a em algumas cultivares, e, como efeito ocorreu um avanço fenológico (Campoy *et al.*, 2011).

A origem climática de cada variedade é um fator importante na adaptabilidade da cultivar a diferentes condições climáticas. Mesmo com a diversidade climática existente, a produção de certas cultivares em áreas divergentes pode desencadear consequências negativas na sua adaptação, relacionadas por exemplo com a fotossíntese, respiração e satisfação das exigências em frio das cultivares (Campoy *et al.*, 2011).

A dessincronização da floração entre as cultivares auto-incompatíveis (como é o caso da pereira ‘Rocha’) e polinizadoras evidenciou-se devido às alterações climáticas. Esta falta de sincronização é um fator limitante na produção de frutos. Caso as temperaturas inverniais sejam elevadas, a quebra de dormência poderá não ocorrer em algumas zonas, assim, não haverá desenvolvimento qualitativo das frutas nem diferenciação normal dos gomos florais (Campoy *et al.*, 2011).

As mudanças climáticas poderão afetar globalmente a fruticultura num futuro próximo. Climas temperados irão ter horas de frio insuficientes para que ocorra dormência, e zonas de latitudes nórdicas poderão vir a ter um bom clima de produção para este tipo de fruteiras (Campoy *et al.*, 2011).

Devido às alterações climáticas registadas nos últimos anos a frequência de invernos quentes em Portugal têm aumentado, encurtando as horas de frio presentes na principal região de produção de pera ‘Rocha’ (De Melo *et al.*, 2005).

2.7 Enquadramento teórico dos materiais e métodos – determinações para a avaliação do estado de dormência

Como qualquer produção, a produção de pera ‘Rocha’ também é afetada por vários fatores humanos e ambientais, sendo estes últimos o clima (temperatura, humidade, radiação, vento), o solo, o relevo e a água. Este projeto focar-se-á na gestão agronómica de fatores culturais que possam ter influência, nomeadamente no controlo da dormência, como sejam a rega, desfolha e poda, avaliando o impacto na planta desses fatores culturais sobre diferentes prismas.

2.7.1 Determinações agronómicas

2.7.1.1 Determinação dos estados fenológicos

‘A fenologia é o estudo da ocorrência de eventos anuais periódicos no mundo vivo, determinados por variações sazonais no clima’. A avaliação fenológica permite a

compreensão e o acompanhamento da fenologia da cultivar ao longo das diferentes fases do ciclo vegetativo (Bloesch e Viret, 2013).

2.7.1.2 Soil Plant Analysis Development (SPAD)

O SPAD permite gerar grandezas relacionadas com os teores de clorofila presentes nas folhas. É um método rápido, prático e direto. Este medidor de clorofila é composto por dois díodos que emitem dois tipos de radiação um a 640nm e outro a 940nm, que correspondem respetivamente a luz vermelha e infravermelho (Jesus e Marenco, 2008).

2.7.2 Determinações laboratoriais

2.7.2.1 Teor Hídrico Relativo – RWC

RWC é um método usado para medir o teor de água na planta em termos fisiológicos.

O potencial hídrico, como estimativa do estado energético da água da planta, é útil para conhecer melhor o transporte de água no processo solo-planta-atmosfera, não tendo em conta o ajuste osmótico. As diferenças nos potenciais hídricos das folhas podem corresponder a diferenças relativamente à hidratação, ao défice hídrico e ao estado fisiológico da folha.

RWC consiste na estimativa do teor de água do tecido da folha, num determinado momento, tendo em conta o teor máximo de água que as células foliares podem conter quando em turgescência

Segundo Barrs e Weatherley (1962), os valores normais de RWC variam entre 98% em folhas completamente turgidas, a cerca de 30-40% em folhas senescentes, dependendo da espécie de plantas. Na maioria das cultivares, o RWC relativamente à fase inicial de senescência foliar é de cerca de 60% a 70%, havendo algumas exceções.

A vantagem deste método recai na simplicidade. Este método permite fazer uma melhor estimativa do estado hídrico da planta em termos de hidratação celular sob o possível efeito do potencial hídrico foliar e do ajuste osmótico.

2.7.2.2 Determinação de hidratos de carbono e proteínas solúveis totais.

Poderá ser uma ferramenta chave para tentar analisar algumas bases fisiológicas do processo de dormência. Os hidratos de carbono mais comuns e relevantes na fisiologia das plantas fruteiras de folha caduca são o sorbitol, que representa cerca de 70% da fonte de carbono em maçã (Ito *et al.*, 2013) e o amido, que se converte noutro açúcar muito comum, a glucose (Fadón *et al.*, 2018).

2.7.2.3 Quantificação de hidratos de carbono de baixo peso molecular– Teste da antrona

O teste da antrona permite detetar de forma relativamente expedita os açúcares de baixo peso molecular, baseando-se na hidrólise ácida das ligações glicosídicas estabelecidas entre os açúcares (Petrica, 2018).

A determinação de hidratos de carbono de baixo peso molecular com o reagente antrona é um método simples, pode ser menos exato, mas tem apresentado grande interesse agronómico. A descoberta da coloração verde quando os hidratos de carbono sofriam um aquecimento com a antrona, fez com que fosse possível estimar o teor de hidratos de carbono (Yemm e Wills, 1954) com o auxílio de uma curva padrão com um reagente padrão.

2.7.2.4 Quantificação de amido por digestão com amílase e amiloglucosidase

Os métodos quantitativos de determinação do amido passam por hidrólises ácidas ou enzimáticas; o procedimento de análise de amido do Megazyme® permite a medição total de amido em diversos alimentos, desde alimentos vegetais, ou animais até mesmo produtos à base de cereais (Megazyme®, 2017).

2.7.2.5 Quantificação de proteínas solúveis – Teste Bradford

Este método baseia-se na ligação do corante *Coomassie Blue* G-250 com as proteínas, esta reação vai originar uma cor azul aniónica, atingindo o máximo de absorvância aos 590nm (Kruger, 2009). Trata-se de uma reação composta por interações iónicas e hidrofóbicas que têm a capacidade de estabilizar a forma aniónica do corante, originando uma mudança visível de cor. Apesar da rapidez é um método sensível, uma vez que o complexo proteína-corante apresenta um coeficiente de extinção molar elevado (Marques, 2016).

Desde modo é possível estimar a quantidade de proteína na amostra determinando a quantidade de corante, para tal é necessário recorrer à espectrofotometria (amostras submetidas a uma absorvância de 595nm) (Kruger, 2009).

2.7.3 Determinações de qualidade

2.7.3.1 Calibração

‘A calibração é determinada pelo diâmetro máximo da secção equatorial de frutos’ (ANP, 1997), dentro da mesma categoria a diferença de diâmetros é limitado a 5mm

(por exemplo, calibre 60 – 65). Em termos comerciais o calibre 60-65 mm é líder, mas existem mercados específicos que valorizam frutas com calibre acima de 70. A importância do calibre na produção deve-se, principalmente, ao seu valor económico.

2.7.3.2 Sólidos solúveis – grau Brix (g de sólidos solúveis/ 100g de amostra)

O grau Brix ou índice refratométrico quantifica a percentagem de matéria seca solúvel existente no sumo de frutas, é o fator condicionante da qualidade gustativa (Trigueiros, s.d.). ‘Brix (símbolo °Bx) é uma escala numérica que mede a quantidade de sólidos solúveis numa solução de sacarose’ (Coelho *et al.*, 2015).

O índice refratométrico de uma pera ‘Rocha’ de qualidade superior (comercializada) é de 11 – 13% Brix (ANP, 2009).

2.7.3.3 Dureza

‘A dureza é uma propriedade cimeira na dimensão mecânica da textura de frutos’ (Santos e Almeida, 2016). Este critério é de elevada importância para o controlo de qualidade executado na cadeia de abastecimento da pera. Recorrendo a um penetrómetro manual (Figura 22), e à força, é possível medir a dureza. Esta medição de dureza é avaliada através da força necessária para fazer penetrar-se uma ponta de 5mm de diâmetro na polpa do fruto sem casca (Santos e Almeida, 2016).

3 Material e Métodos

3.1 Apresentação do pomar

O presente estudo ocorreu num pomar de pereira 'Rocha' plantado com borbulha dormente a 18/02/1998 em porta-enxerto BA29 e com compasso de 4,5m x 2m.

O pomar está instalado na Quinta Nova, pertencente ao polo do INIAV em Alcobaça e apresenta 1111 árvores por hectare.

Durante o estudo, foram instaladas modalidades numa parcela do pomar para avaliar alterações que diferentes práticas ao nível da rega, da desfolha e da poda possam causar nas variáveis em estudo.

3.2 Modalidades do ensaio experimental

Planeou-se três vertentes distintas com o intuito de analisar o comportamento das árvores ao nível da quebra de dormência e sincronização fenológica seguinte, em resposta à desfolha, ao efeito da rega e, ao efeito da poda. Foram escolhidas árvores tão homogêneas quanto possível para iniciar o ensaio e definidas várias modalidades em redor destas três vertentes.

Para cada uma delas monitorou-se a fenologia e outros indicadores relacionados com a dormência.

Numa tentativa de aprofundar os conhecimentos sobre os mecanismos da dormência, procedeu-se também a uma monitorização de alguns processos bioquímicos.

Modalidades instaladas:

- Rega – Dobro da dotação da rega (DR); Corte da rega (CR) iniciadas a 15 de setembro de 2017;
- Poda – Poda antecipada realizada a 7 de dezembro de 2017 (PA); Poda normal efetuado a 30 de janeiro de 2018 (PN); Poda tardia praticada a 26 de março de 2018 (PT);
- Desfolha com químico da Nutrisapec designado por Coppermix (anexo VII) – Desfolha química 30 dias após a colheita iniciada a 15 de setembro de 2017 (DQ 30); Desfolha química 60 dias após a colheita efetuado a 24 de outubro de 2017 (DQ 60);
- Controlo – Rega normal/ Poda normal/ Sem aplicação de desfolhante (C).

Apresenta-se de seguida a implementação das diferentes modalidades de forma mais detalhada.

3.2.1 Vertente Rega

Esta vertente é composta por duas modalidades distintas designadas por ‘Dobro da dotação de rega’ (DR) e ‘Corte da rega’ (CR), cada uma terá 10 árvores. Pretende-se comparar as duas modalidades entre si e também com a modalidade que traduz a rega do agricultor, o controlo (C).

Relativamente ao DR colocou-se um segundo tudo de rega com a mesma dotação da já existente (Figura 3A e 3B).

Para a modalidade CR, o corte da água foi executado através da obstrução do tubo de rega normal (Figura 3C).



Figura 3 Manipulação da rega, adicionou-se um tubo de rega, obtendo o dobro da dotação da rega (A e B); Obstrução do tubo de rega da linha 5 até à árvore 20 (C).

Estas modalidades serão comparadas entre si e, também, com a testemunha de forma a perceber a existência, ou não, de consequências na acumulação de reservas e quais as condições de atividade metabólica da planta.

O pomar apresenta um programa de rega que compreende uma frequência de 3 vezes por semana com um caudal de 4L/h durante 1 hora e 30 minutos durante cada rega (Maia de Sousa, 2018; com. pessoal). Assim a modalidade DR apresentava uma dotação de 12L/h em cada rega.

3.2.2 Vertente Desfolha

Tal como a vertente de ‘Rega’ esta também é composta por 2 conjuntos de 10 árvores: a modalidade aplicação de ‘Desfolha química 30 dias após a colheita’ (DQ30) com início a 15 de setembro de 2017 e a modalidade ‘Desfolha química 60 dias após a colheita’ (DQ60) que ocorreu a 24 de outubro de 2017. Nas datas anteriormente referidas aplicaram-se um desfolhante fornecido pela Nutrisapec, designado comercialmente por ‘Coppermix’ (ver anexo VII).

A Nutrisapec recomenda 4kg/ha (valor standard), num volume de calda de 1000L/ha. A modalidade consistiu na aplicação de 36g de produto comercial em 9L de água.

Após a colocação da solução num pulverizador (utilizou-se um pulverizador motorizado da marca Birchmeier M155) é importante ter em conta a direção do vento para que este trabalho seja sempre feito a seu favor, assim como conseguir humectar o máximo possível, de modo a que a árvore receba a calda de forma homogênea.

Este método foi executado de forma idêntica em ambas as datas de desfolha.

3.2.3 Vertente Poda de Inverno

Esta vertente compreende três tipos de modalidades de poda de inverno; 'Poda antecipada' (PA) efetuada a 7 de dezembro de 2017; 'Poda normal' (PN) executada a 30 de janeiro de 2018; 'Poda tardia' (PT) realizada a 26 de março de 2018.

3.3 Determinações fisiológicas e agronómicas

Foram avaliados os estados fenológicos e realizados diversos registos biométricos nas diferentes árvores de cada modalidade.

3.3.1 Soil Plant Analysis Development (SPAD)

Desde da implementação das vertentes até à senescência das árvores foi medido o SPAD (mede uma unidade de clorofila) com um aparelho SPAD-502 da Minolta semanalmente em três folhas em cada árvore (junto ao tronco, a meio da copa e do lado externo da copa) de modo a avaliar eventuais alterações de clorofila em cada modalidade em estudo.

3.3.2 Taxa de queda de folha

Efetuiu-se um cálculo semanal que consistiu na contagem do número de folhas/número de gomos totais numa verdasca por árvore, em todas as modalidades. Este cálculo terminou quando a percentagem de queda de folha foi de aproximadamente 100% em todas as modalidades.

Semanalmente contaram-se todas as folhas e gomos foliares presentes numa verdasca (aleatória) por árvore. Calculou-se a razão entre os dois valores em todas as modalidades.

3.3.3 Determinação dos estados fenológicos

Após a visível quebra de dormência a avaliação recaiu sobre o acompanhamento do crescimento vegetativo desde a quebra de dormência até ao vingamento (estado J). Semanalmente os estados fenológicos foram acompanhados, dando especial atenção às datas de plena floração, vingamento e por fim, de colheita de cada modalidade. O

acompanhamento foi efetuado segundo a escala de Fleckinger. Como auxílio utilizou-se um artigo de 2013, cujos autores são Bernard Bloesch e Olivier Viret (ver anexo I).

3.3.4 Taxa de vingamento

Marcaram-se quatro corimbos (um em cada quadrante) por árvore em todas as modalidades, estes foram acompanhados desde a floração até ao vingamento de modo a obter a taxa de vingamento de cada modalidade.

Na plena floração contaram-se todas as flores de cada corimbo, e, após duas semanas, já quando algumas flores já teriam caído e outras vingado, repetiu-se a contagem, desta vez de frutos. A contagem final do número de frutos foi efetuada a 25 de maio de 2018, 1 mês após a plena floração.

Considerando o número de frutos vingados e o número de flores existentes nos mesmos órgãos calculou-se a taxa de vingamento de acordo com a seguinte expressão:

$$\% \text{ vingamento} = \frac{\text{número de frutos vingados}}{\text{número de flores por corimbo}} \times 100$$

3.3.5 Crescimento de frutos

Após o vingamento, marcaram-se 6 frutos por modalidade, que foram acompanhados e medidos semanalmente até à colheita. A medição foi efetuada com o auxílio de um paquímetro digital marca Wurth (0 – 150mm).

O requisito inicial para a escolha dos frutos teve em conta o diâmetro dos frutos, selecionaram-se de modo a que a amostragem fosse representativa do calibre médio da modalidade em questão. Frutos caídos foram substituídos por frutos de diâmetro semelhante.

3.4 Determinações de produção e qualidade

Foi importante analisar cada modalidade relativamente à qualidade. Colheram-se 40 das árvores em estudo, ou seja, 5 árvores por modalidade.

3.4.1 Produção

A seleção das árvores teve em conta as árvores que tinham frutos marcados para o acompanhamento do crescimento de frutos. A colheita ocorreu a 134 dias após a plena floração (25 de abril de 2017). O conjunto de peras colhidas em cada árvore foi marcado e armazenado numa câmara refrigerada.

3.4.2 Determinação da área de secção do tronco – AST

A AST é calculada com base na média do diâmetro máximo e mínimo dos troncos das árvores colhidas, tendo sido determinada para normalizar a produção (kg/cm^2 de AST).

Todos os diâmetros foram calculados 20 cm acima do porta-enxerto com recurso a um paquímetro de troncos usado para medição de espessuras de árvores (Figura 4).

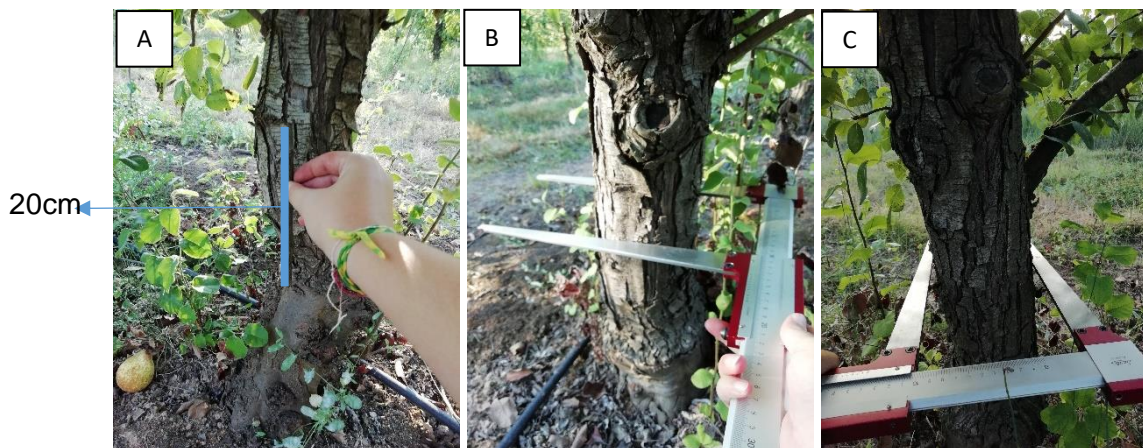


Figura 4 Medição dos 20 cm a cima do porta-enxerto (A); Diâmetro mínimo do tronco (B); Diâmetro máximo do tronco (C).

3.4.3 Distribuição por calibre

Toda a fruta colhida foi submetida a um processo de calibragem, efetuado com o auxílio de um calibrador manual de madeira (Figura 5).

De seguida todas as categorias foram pesadas com um dinamómetro, contabilizando o número de frutos por calibre (Figura 6). Por fim a fruta foi colocada num palote.



Figura 5 Fruta colhida (A); Calibrador manual (B); Calibragem (C).



Figura 6 Pesagem de uma categoria.

3.4.4 Análises de qualidade

De cada árvore foram selecionados 10 frutos de calibre 60/65mm (Figura 7), o calibre mais comum em anos considerados de produção normal (ANP, 1997).



Figura 7 Exemplo de uma amostra de 10 peras de calibre 60/65mm de uma árvore.

De modo a obter uma análise mais pormenorizada de cada modalidade determinaram-se vários parâmetros, tais como a variação de diâmetros e altura, o peso, testes de maturação (quantidade de sólidos solúveis (grau Brix) e dureza) e a quantidade de sementes rudimentares e verdadeiras.

3.4.4.1 Calibre e altura

Mediu-se todos os conjuntos de 10 frutas de cada modalidade, tanto a nível de diâmetro máximo (Figura 8A) como de altura (Figura 8B), sempre com o auxílio de um paquímetro, marca Wurth (0-150mm).

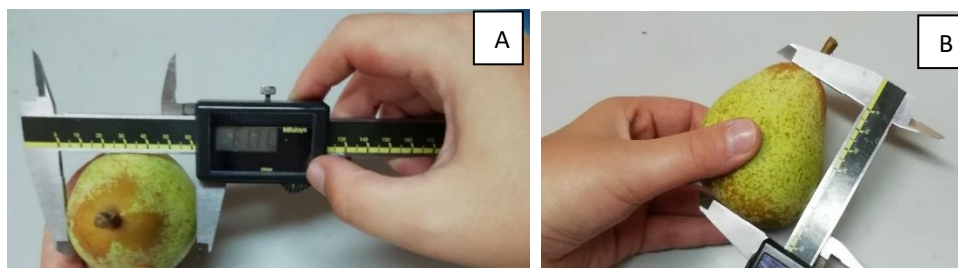


Figura 8 Medição do diâmetro máximo da pera (A); medição da altura máxima da pera (B). Aparelho utilizado em ambas as figuras designado por paquímetro marca Wurth (0-150mm).

3.4.4.2 Pesagem

Todas as amostragens de pera foram pesadas individualmente com uma balança eletrônica de precisão, marca Mettler PE 2000 (Figura 9).

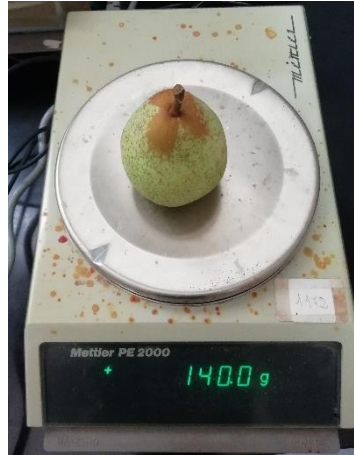


Figura 9 Balança de precisão Mettler PE 2000.

3.4.4.3 Testes de maturação

Neste estudo foram executados dois dos testes de maturação, o grau Brix e a dureza.

3.4.4.3.1 Sólidos solúveis – grau Brix

Com o auxílio de um refratômetro, marca Atago N1 (0 ~ 32%) foi possível calcular a dosagem de sólidos solúveis das amostragens (Figura 10).



Figura 10 Refratômetro para medição do grau Brix.

3.4.4.3.2 Dureza

Com o auxílio de um penetrômetro marca Fruit Pressure Tester modelo FT 327 mediu-se a dureza das peras selecionadas (Figura 11).



Figura 11 Penetrômetro Fruit Pressure Tester modelo FT 327 com ponta de 5 mm.

3.4.4.4 Quantidade de sementes – rudimentares e verdadeiras

Por fim a pera foi cortada a meio (com uma faca) de modo a que fosse perceptível a quantidade de sementes existentes, determinando o número de sementes verdadeiras e rudimentares.

3.5 Determinações laboratoriais

3.5.1 Teor Hídrico Relativo - RWC

O protocolo a usar baseou-se no método de Barr e Weatherley (1962) designado por “Leaf Relative Water Content (RWC)”.

Retiraram-se 2 folhas por árvore em todas as modalidades em vigor. No laboratório foram feitos discos de folhas com um diâmetro de 1,4 cm, que foram posteriormente pesados (W) para determinação do peso fresco (Figura 12).

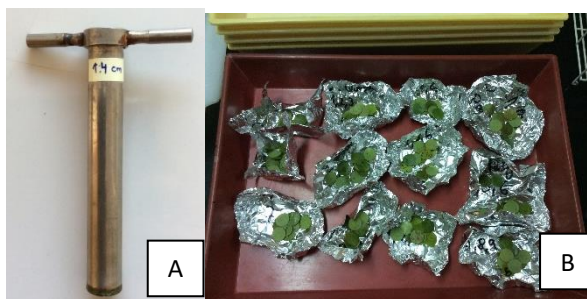


Figura 12 Utensílio auxiliar para corte dos discos de folhas com diâmetro de 1,4cm (A); folhas cortadas prontas a pesar (B).

Foram utilizadas placas de Petri com o fundo revestido com papel de filtro (Figura 13A). Os discos foliares foram colocados na placa de Petri e tapados com outro papel de filtro. De seguida, com um esguicho humedeceu-se de forma excessiva, de modo a

que todo o papel de filtro ficasse saturado e que todos os discos estivessem em contacto com a água destilada (Figura 13B). Estes discos ficaram a absorver a água durante um dia numa sala escura e a temperatura normal.

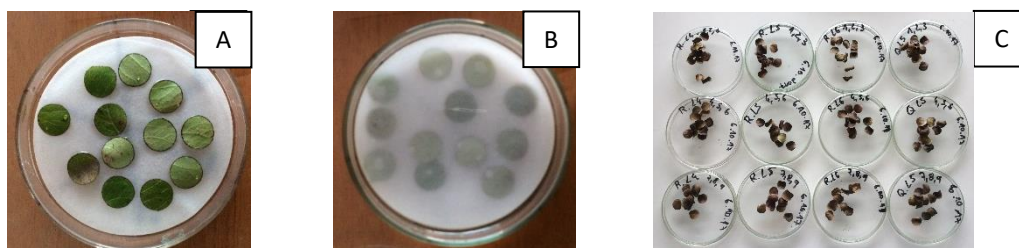


Figura 13 Discos com 1,4cm de diâmetro (A); Discos humedecidos (B), ambos em placas de petri; Placas de petri com discos foliares após uma semana na incubadora a 100°C (C).

Após 42 horas os discos foram retirados da água e removido o excesso de água à superfície com papel de filtro, ficando com as células totalmente hidratadas obtendo do peso túrgido (TW) dos discos, com o auxílio de uma balança.

Os discos ainda em placas de Petri foram colocados numa incubadora com temperatura de 100°C durante uma semana (Figura 13C). Após a desidratação total dos discos, pesaram-se novamente obtendo o peso seco (DW).

Assim, foi possível calcular o teor hídrico relativo (RWC), a partir da seguinte equação, $RWC (\%) = [(W - DW) / (TW - DW)] \times 100$, onde o W corresponde ao peso da amostra fresca, TW é o peso túrgido e por fim DW indica o peso seco da amostra.

3.5.2 Determinação de hidratos de carbono e proteínas solúveis totais.

As amostras recolhidas ao longo do ciclo vegetativo foram analisadas laboratorialmente para determinação de teores de alguns hidratos de carbono e proteínas solúveis.

O material recolhido consistiu em 2 ramos por árvore, de preferência, com gomo apical floral. Um dos ramos foi seco numa incubadora a 40°C, para evitar a degradação de hidratos de carbono enquanto o outro foi congelado, para determinação do teor global de proteínas solúveis. Foram realizadas colheitas de material de setembro a abril, para poder analisar bioquimicamente.

3.5.2.1 Teste da hidrólise de hidratos de carbono – Teste da antrona (Chow e Landhausser, 2004)

Esta análise foi executada em dois órgãos vegetais diferentes, folhas e ramos para determinação dos teores de hidratos de carbono de baixo peso molecular (extraídos em etanol 80%).

Protocolo laboratorial:

Ligar o banho-maria a 85°C e a incubadora a 100°C.

Moer amostras secas com almofariz e azoto líquido, por forma a que toda a amostra fique em pó fino.

Colocar 0,2 g a 0,3 g de amostra em cada tubo com 5 mL de solução de etanol 80%, anotando o peso (açúcares simples).

Centrifugar os tubos durante 5 minutos a 8000 rpm à temperatura ambiente e retirar o sobrenadante conservando-o.

Em tubos de vidro colocar 190µL de água destilada mais 10 µL do sobrenadante obtido após a centrifugação.

Fazer um tubo de controlo com água em vez de sobrenadante e um tubo com etanol 80% em vez de sobrenadante.

Adicionar a cada tubo 1 mL de solução de antrona ($C_{14}H_{10}O$) (Figura 14).

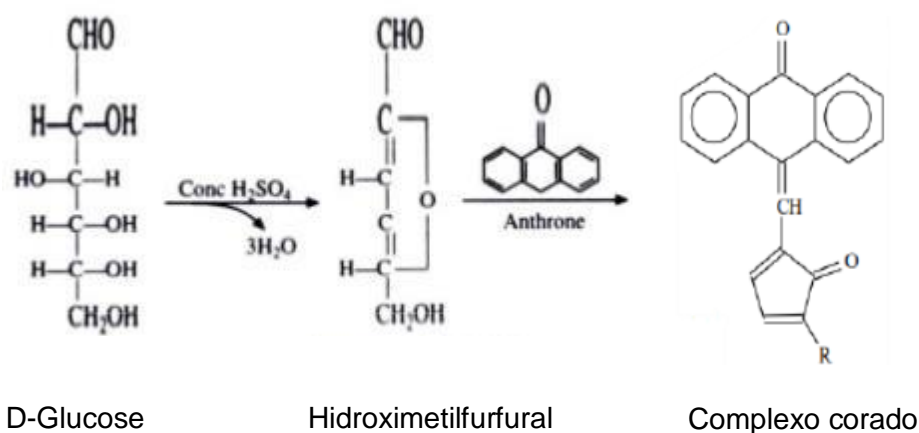


Figura 14 Reações de base do teste da antrona com a glucose (Petrica, 2018).

Misturar e incubar tubos com reação na incubadora a 100°C durante 10 minutos.

De modo a parar a reação, colocar os tubos em banho de gelo e transferir a reação para uma cuvette de poliestireno.

Medir a absorvância num espectrofotómetro a 630 nm.

Com o auxílio de uma curva de calibração feita com glucose será possível calcular o teor de glucose equivalente na matéria seca usada.

Preparação do reagente antrona:

Pesar 200 mg de antrona num frasco de vidro.

Adicionar 100 ml de H_2SO_4 concentrado.

Agitar cuidadosamente até se obter uma mistura homogénea.

Revestir todo o fasco com papel de prata de modo a conservar o reagente protegendo-o da luz.

Após usar colocar o restante reagente a 4°C.

3.5.2.1.1 Curvas de calibração

Para a curva de calibração de glucose usaram-se as seguintes concentrações: 0; 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000; 2000 e 4000 mg/L.

Estas concentrações foram obtidas através de diluições consecutivas, consistindo na primeira solução, com concentração de 4000 mg/L na diluição de 40 mg de glucose pura em 10 mL de água destilada.

Cada uma destas soluções foi sujeita ao teste da antrona com 1000 µL, realizado como anteriormente descrito.

Usou-se dois termos diferentes, 200 (Figura 15A) e 20 µL (Figura 15B) obtendo duas hipóteses de curvas e, conseqüentemente duas equações da reta possíveis, para avaliar se há alguma inibição ou menor influência.

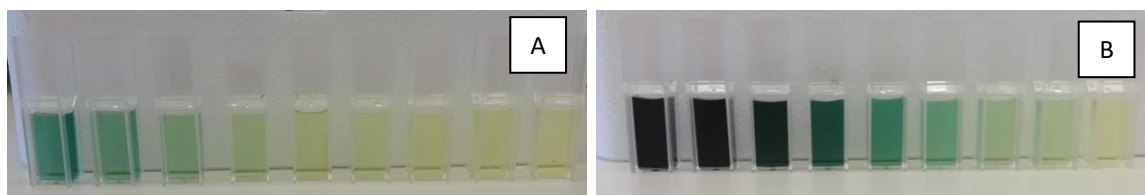


Figura 15 Diluições para curva de calibração com concentração de 200µL (A); e concentração de 20µL (B).

Mediram-se as densidades óticas no espectrofotômetro como descrito, estabelecendo-se uma curva de calibração

As curvas padrão foram determinadas com o auxílio do Windows Excel, através da obtenção de um gráfico de dispersão ao qual se ajustou uma função. A qualidade do ajuste da curva foi verificada pelo coeficiente de determinação (R^2).

3.5.2.2 Teste digestão da amílase para detecção do amido.

A detecção do amido foi feita com recurso a um kit da ©Megazyme Total Starch (amyloglucosidase/ α -amylase method), utilizando-se como extratos de partida o resíduo que resultou da extração com etanol a 80% a quente (recolhido aquando a centrifugação).

Procedimento laboratorial:

Adicionar 3 mL de solução α -amylase e agitar no vortex, de acordo com o protocolo.

Incubar resíduo com solução de α -amilase em banho-maria durante 12 minutos a 100°C, agitando vigorosamente de 4 em 4 minutos no vortex.

Colocar tubos num banho-maria a 50°C de modo a estabilizar a temperatura.

Adicionar 0,1mL de solução de amiloglucosidase, homogeneizar recorrendo ao vortex e incubar novamente em banho-maria a 50°C durante 30 minutos.

Preencher o tubo com água destilada até aos 10mL.

Centrifugar a 5000rpm durante 10 minutos.

Para um tubo de vidro transferir cuidadosamente 0,1 mL do sobrenadante correspondente a cada amostra (Figura 16B); preparar a par um tubo de vidro com 0,1 mL de D-glucose e um tubo só com 0,1 mL dH₂O (Figura 16A). A todos os tubos adicionar 3 mL de reagente GOPOD, e incubar todos num banho-maria a 50°C durante 20 minutos (Figura 16).

Retirar 1 mL das soluções que estão nos tubos para cuvetes de poliestireno e medir no espectrofotómetro a 510 nm.

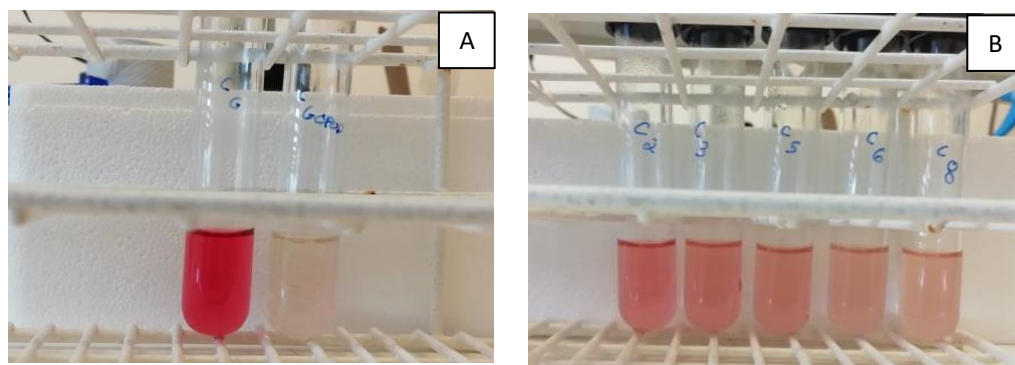


Figura 16 Na figura 16A estão representados os brancos (glucose e GOPOD); na figura 16B está um conjunto de cinco amostras. Soluções estão prontas a medir no espectrofotómetro a 510 nm.

3.5.2.3 Teor de proteínas solúveis- Teste Bradford (1979)

Para o teste Bradford usaram-se três diferentes órgãos vegetativos, folhas, ramos e gomos.

Procedimento laboratorial:

Preparar um tubo eppendorf de volume total de 1,5mL para cada amostra. No seu interior colocar 200 μ L de solução tampão fosfato de sódio 0,1M e pH=7,5.

Moer as amostras com o auxílio de um almofariz e azoto líquido, obtendo um pó. Sem deixar descongelar, transferir 0,1g a 0,2g para tubo eppendorf que tinha o tampão de fosfato de sódio (anotar a quantidade de matéria seca) e misturar bem.

Centrifugar os tubos a 13000 rpm à temperatura ambiente durante 10 minutos e retirar 20 μ L de sobrenadante para a cuvete.

Adicionar 1mL de solução Bradford e medir a absorvância no espectrofotômetro a 595nm.

Preparação do reagente Bradford:

Pesar 0,1g de G-250 e colocar num balão de 1L.

Adicionar 50 mL de ácido ortofosfórico.

Preencher o restante volume do balão com dH₂O esterilizada.

Filtrar para um frasco de 1L.

Revestir com papel de prata para proteger da luz e colocar a 4°C.

3.1 Tratamento de dados

O efeito de cada fator foi avaliado através de análises de variância ($\alpha=0,05$), sempre que os seus pressupostos foram validados com recurso ao programa R (<https://cran.r-project.org/mirrors.html>). Quando esta análise de variância identificou fatores com efeito significativo, as comparações de médias foram realizadas com base no teste de Tukey ($\alpha=0,05$).

4 Resultados e discussão

Não se fará uma apresentação exaustiva de todas as variáveis climáticas durante o período do ensaio (ver anexo V. figuras 37, 38 e 39), apresentando-se de seguida apenas o aspeto mais diretamente relacionado com a dormência, as horas de frio.

4.1 Horas de frio

Com o auxílio dos dados obtidos por parte do Instituto de Meteorologia, e com amável cedência dos mesmos por parte do Doutor Miguel Leão, foi possível obter as horas de frio abaixo de 7,2°C entre 1 de outubro de 2017 a 15 de fevereiro de 2018 na zona de Alcobaça.

A 6 de janeiro de 2018 as 550 horas de frio necessárias à produção de pera 'Rocha' foram garantidas. Na figura 17 conclui-se que, a 15 de fevereiro de 2018, a cultura de pera 'Rocha' implementada na zona de Alcobaça apresentou uma acumulação de 857 horas de frio (Figura 17).

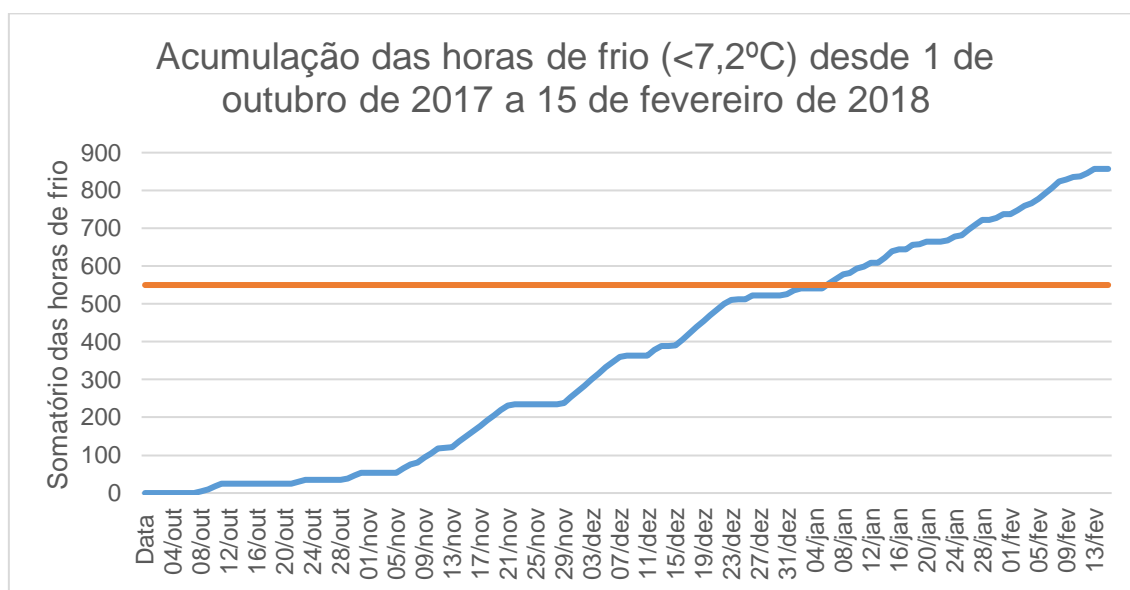


Figura 17 Horas de frio acumuladas na parcela em estudo em Alcobaça durante o período de dormência.

Também, segundo estudos obtidos através do Instituto Português do Mar e da Atmosfera (IPMA) o pomar adquiriu entre 1000 a 2000 horas de frio desde 1 de outubro até 2017 até 30 de abril de 2018 (Figura 18).

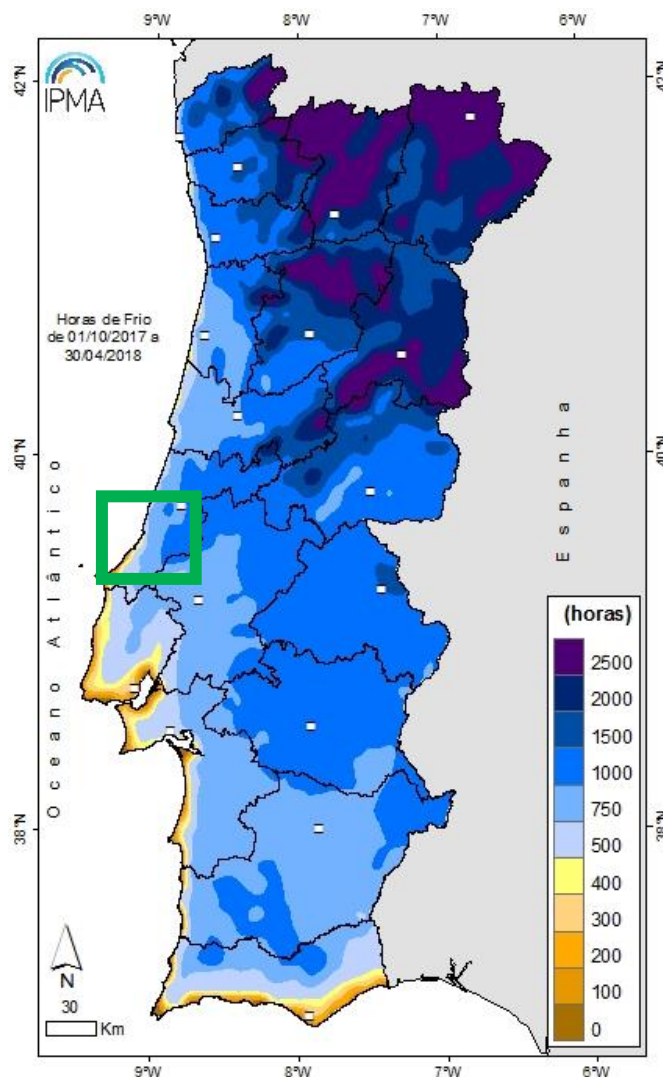


Figura 18 Mapa de registos do ‘Número de horas de frio (total de horas com temperaturas inferiores a 7.2°C) acumulado desde 01 de outubro (até 30 de abril) para fruteiras em Portugal Continental’, calculado com base nos resultados da análise objetiva do modelo de previsão numérica do tempo – ALADIN (operacional no IPMA, I.P.). O mapa utiliza os limites distritais (IPMA, 2018). Marcou-se a verde a zona do concelho de Alcobaça.

Portanto, pode-se afirmar que as exigências em frio foram satisfeitas a 156%.

4.2 Monitorização agrónómica e fisiológica – pré senescência

A avaliação fisiológica envolveu a medição das unidades de clorofila (SPAD), teor hídrico relativo (RWC) e intensidade de queda da folha.

4.2.1 SPAD

Os valores do SPAD obtidos ao longo da medição encontram-se no quadro 1.

Com a medição semanal do teor de clorofila das folhas de cada modalidade foi possível perceber que a vertente ‘Rega’ apresentou valores globalmente mais elevados

de SPAD. No entanto, estes valores não diferem significativamente na modalidade CR, o que nos leva a equacionar a possibilidade da medição de SPAD não ter sido influenciada apenas pelo estado hídrico da planta. No entanto, é de realçar que a modalidade DR foi até à penúltima data (10 de novembro) a que apresentou valores mais elevados de SPAD, podendo indiciar melhor performance fotossintética e, eventualmente melhor contributo para a acumulação de reservas.

O incremento verificado genericamente na última medição não era esperado, suspeita-se que houve um aumento momentâneo da atividade fisiológica devido à precipitação (210mm) que ocorreu neste período e à ainda existência de folhas nas árvores (Quadro 1).

Quadro 1 Médias dos SPAD's medidos em cada modalidade.

Modalidades	22/set	29/set	06/out	13/out	20/out	24/out	10/nov	31/nov
C	31,9 b	30,7 b	33,9 a	32 a	34,1 b	34,9 a	28,6 b	39,3 a
CR	35,7 a	35,1 a	32,6 a	31,5 a	33,1 b	35,5 a	31,5 ab	38,4 a
DR	37,2 a	35,4 a	35 a	32,7 a	37,2 a	35,5 a	35,1 a	24,8 b
DQ 30	35,2 ab	32,5 ab	32,7 a	30,8 a	35,2 ab	30,8 b	32,1 ab	37,3 a
DQ 60						32,5 ab	28,4 b	34,8 a
<i>Média da parcela</i>	35	33,4	33,5	31,8	34,9	33,4	30,8	34,1

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=30$.

A Figura 19 ressalta que a evolução do teor de clorofila não foi sempre decrescente como seria de esperar, sugerindo a necessidade de uma melhor aferição do método.

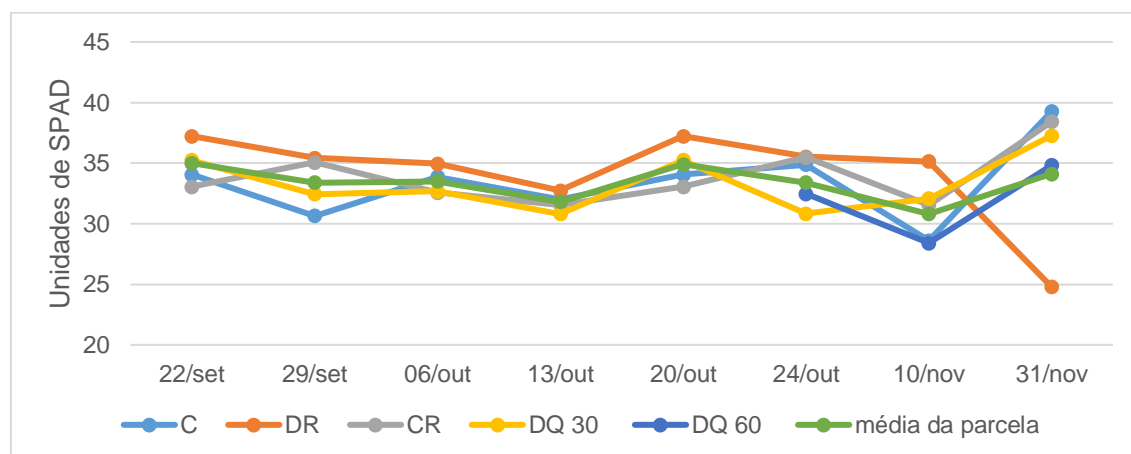


Figura 19 Oscilações de SPAD por modalidade obtidas ao longo das medições.

Como resultado principal, a medição de SPAD mais alto na modalidade DR vem ao encontro do que se esperava na medida em que é a modalidade em que atividade fisiológica é mantida mais tempo.

4.2.2 Teor Hídrico Relativo – RWC

Não dispondo na altura de tecnologias de monitorização do teor de água no solo foi determinado o RWC, para verificação da existência de stress hídrico nas plantas.

Através da equação: $RWC(\%) = \left(\frac{W-DW}{TW-DW} \right) * 100$ obteve-se os resultados presentes no quadro 2.

Quadro 2 Valores de RWC das modalidades em vigor a 6 de outubro de 2017.

RWC (%)				
	DR	CR	C	DQ 30
RWC %	80,25 a	68,22 a	80,28 a	78,40 a

Letras diferentes em linha traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=20$.

A análise estatística das médias (%) de cada modalidade confirmou que as modalidades não eram significativamente diferentes.

No entanto, observando os valores de forma mais pormenorizada, é possível afirmar que a modalidade CR foi a que apresentou valores mais baixos de RWC. Segundo Barr e Weatherley (1962), 68% indica que as árvores estavam em stress hídrico, porém, as restantes modalidades em vigor apresentavam-se completamente túrgidas, sendo de admitir que o estado hídrico não constituiu nestas um fator de stress.

4.2.3 Intensidade de queda da folha

Enquanto houver folhas nas árvores há acumulação de reservas (hidratos de carbono, proteínas e outras) importantes para a sobrevivência da planta durante o período invernal e início de ciclo seguinte (Faust, 1989).

O desfolhante aplicado nas árvores selecionadas teve o efeito esperado, uma vez que, após sensivelmente um mês da aplicação do desfolhante (primeira observação), a modalidade DQ 30 foi a que apresentou maior intensidade de queda. A medição da intensidade da queda de folha da modalidade DQ 60, apesar de realizada um mês após a desfolha mais precoce, indicou ter uma ação de queda da folha mais acelerada, na medida em que os valores registados nas medições posteriores se aproximaram rapidamente (Quadro 3).

Quando em condições de conforto hídrico, a área foliar mantém-se eficiente, com o consequente atraso na senescência (Leão, M.: com. Pessoal). Este efeito foi constatado pela queda mais lenta da modalidade DR. O CR apresentou o efeito esperado, uma vez que seria expectável que a senescência fosse antecipada e incrementada.

Através dos resultados obtidos na modalidade C concluímos que, a senescência das folhas prolongou-se até ao início do período invernal contrariamente às modalidades com desfolha, onde a senescência foi significativamente diferente e, portanto, mais adiantada nas modalidades tratadas. Face às modalidades regadas estas diferenças não foram significativas apesar dos valores registados nas árvores sujeitas a corte de rega ser de mais 8,4%.

Dois meses após a colheita, a 10 de novembro, houve uma intensificação de queda de folha em todas as modalidades. Nas últimas duas datas foi notória uma queda da folha mais elevada na modalidade CR e na vertente de desfolha o que já era espetável.

A modalidade DQ 30 teve uma queda de folha significativa desde a primeira data de observação, sendo conjuntamente com a DQ 60 as modalidades que apresentaram uma maior queda (Quadro 3).

Quadro 3 Valores percentuais de intensidade de queda da folha.

Modalidade	13/out	20/out	10/nov	23/nov	07/dez
C	34% b	34% ab	56% ab	69% a	76% b
CR	27% b	31% b	62% a	73% a	85% ab
DR	24% b	17% b	43% b	70% a	79% b
DQ 30	54% a	53% a	53% ab	84% a	93% a
DQ 60		19% b	51% ab	78% a	92% a

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=10$.

Portanto é de salientar que os agentes químicos desfolhantes atuaram como esperado, tal como a modalidade CR. Também é notável que a 23 de novembro houve alguma aproximação na queda da folha (Figura 20), esta situação poderá estar relacionada com as condições climáticas, como é o caso da ação do decréscimo temperatura (ver anexo V, figura 37) e do fotoperíodo na fisiologia (ver anexo V, figura 38).

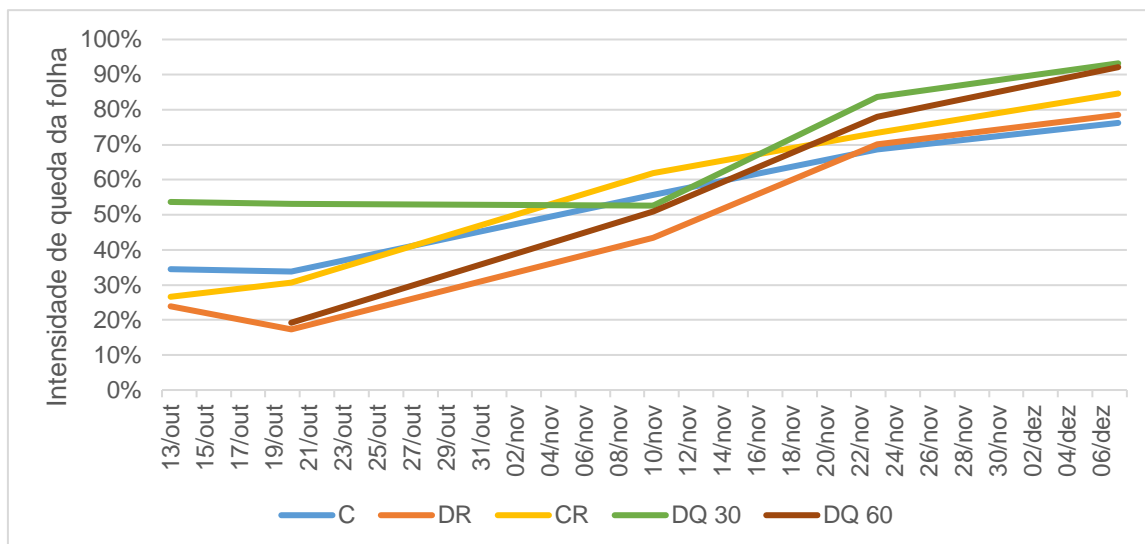


Figura 20 Intensidade de queda de folha das cinco modalidades em vigor durante as datas de observação.

4.3 Monitorização agronómica – pós quebra de dormência

4.3.1 Taxa de vingamento

Após a análise estatística observou-se diferenças significativas relativamente à taxa de vingamento entre as oito modalidades.

A modalidade significativamente mais rica em flores vingadas por corimbo foi a modalidade DR, porém também é a modalidade que apresenta um desvio padrão maior, indicando que a floração das 10 árvores não foi homogênea.

Relativamente ao número médio de flores por corimbo observados à data de plena floração (25 de abril) concluiu-se que não existiam diferenças significativas, os valores oscilaram entre 7,33 e 8,73 flores por corimbo (Quadro 4).

É notável que modalidades com maior taxa de vingamento foram o DR e a DQ 60. Estes valores merecem ser destacados na medida em que são operações culturais não usadas comercialmente, e que merecem ser alvo de estudos complementares pois sugeriram apresentar ter um impacto económico relevante. Por outro lado, as modalidades com menor taxa de vingamento foram PN, PT e C (Quadro 4).

Quadro 4 Números de flores por corimbos e taxas de vingamento (os valores das médias e do desvio padrão são referentes aos valores observados nas 10 árvores por modalidade).

Modalidades	25/abr	11/mai	25/mai	
	Nº de flores por corimbo	Nº de frutos por corimbo	Nº de frutos por corimbo	Taxa de vingamento (%) um mês após plena floração
<i>C</i>	7,6 ± 2,2 a	1,7 ± 1,7 b	1,1 ± 1,2 b	14 ± 7,9 ab
<i>CR</i>	8,4 ± 2,6 a	2,6 ± 2,5 ab	1,6 ± 1,3 ab	19,1 ± 10,7 ab
<i>DR</i>	8,0 ± 1,8 a	3,4 ± 2,9 a	2,3 ± 2,0 a	27,3 ± 15,3 a
<i>DQ 30</i>	7,6 ± 1,7 a	2,2 ± 1,9 ab	1,6 ± 1,4 ab	19,8 ± 10,5 ab
<i>DQ 60</i>	7,3 ± 2,2 a	2,4 ± 1,8 ab	1,7 ± 1,4 ab	23,6 ± 12,3 ab
<i>PA</i>	7,7 ± 2,12	2,4 ± 2,0 ab	1,7 ± 1,6 ab	22,2 ± 9,4 ab
<i>PN</i>	8,7 ± 1,8 a	2,5 ± 2,0 b	0,8 ± 1,2 b	8,7 ± 6,2 b
<i>PT</i>	8,4 ± 2,7 a	1,8 ± 1,8 b	1,1 ± 1,2 b	13,3 ± 6,6 ab
<i>Média da parcela</i>	8,0 ± 2,1	1,7 ± 1,9	1,5 ± 1,4	18,5 ± 9,9

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=40$.

4.3.2 Número de corimbos por árvore

Apesar das diferenças não serem significativas são relevantes, a modalidade onde se aplicou o desfolhante 60 dias após a colheita conduziu a um número médio de corimbos por árvore que superou em 19,2% a modalidade controlo (Quadro 5).

A média de corimbos por árvore na parcela é de 88,8, as modalidades DQ 60, DQ 30, PT e CR superam esse valor (Quadro 5).

Em comparação com a taxa de vingamento percebemos que, apesar da modalidade DR apresentar uma taxa de vingamento maior (Quadro 5), não é a que apresenta uma quantidade de corimbos maior, pelo contrário, esta modalidade exibiu o menor número de corimbos por árvore da parcela em estudo. Especula-se que o metabolismo da planta não estagnou, continuando a crescer gomos não florais, não ocorrendo a diferenciação floral espetável, este resultado também pode refletir numa menor competição fisiológica entre frutos.

O mesmo não ocorre com as modalidades DQ 60 que, também apresentou uma taxa de vingamento elevada, um maior número de corimbos por árvore e uma produção potencial elevada (Quadro 5).

O quadro 5 reflete a quantidade de corimbos média por modalidade e a produção potencial de cada modalidade. Estatisticamente aferimos que todas as modalidades tinham um número de estruturas florais semelhantes.

Quadro 5 Quantidade de corimbos média por árvore e produção potencial.

Modalidades	Número de corimbos/árvore	Produção potencial
<i>C</i>	84,2 a	89,2
<i>CR</i>	91,6 a	146,4
<i>DR</i>	80,2 a	174,3
<i>DQ 30</i>	93,2 a	140,4
<i>DQ 60</i>	103,4 a	178,7
<i>PA</i>	84,8 a	144,2
<i>PN</i>	80,6 a	61,5
<i>PT</i>	92,0 a	103,3
<i>Média da parcela</i>	88,8	129,8

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=10$.

Tanto as árvores da vertente desfolha, como as da modalidade CR sofreram um stress antecipado, ambos podem ter contribuído para uma paragem de crescimento mais cedo com consequências positivas no desenvolvimento floral. O mesmo pode ter acontecido na modalidade PT, quando se fez a poda nas plantas estas já tinham sofrido diferenciação floral, assim a poda foi mais seletiva tendo sido deixado órgãos vegetais de interesse, deixando assim a planta com mais carga floral.

4.3.3 Estados fenológicos

Observou-se a parcela à medida que os gomos iam se desenvolvendo, classificando se o seu estado fenológico segundo o artigo dos autores Bernard Bloesch e Olivier Viret (2013). Calculou-se dados percentuais das modalidades ao longo do tempo (Quadro 6).

Quadro 6 Percentagem dos estados fenológica nas respetivas datas de observação.

	A	B	C	C3	D	E	E2	F	F2	G	H	I	J
07/03/2018	100												
24/03/2018	75	25											
31/03/2018	28	46	21	5									
04/04/2018		10	35	38	16	1							
16/04/2018			9	7	54	30							
20/04/2018					3	38	20	25	14				
25/04/2018							7	11	49	21	9	4	
30/04/2018							1	0	5	11	11	37	36
04/05/2018									3	1	9	39	47

Observou-se individualmente cada modalidade de modo a acompanhar a fenologia desde o abrolhamento até ao vingamento de todas as modalidades em separado, possibilitando a análise das modalidades relativamente aos estados fenológicos e respetiva duração (Quadro 7).

Assim, conclui-se que as modalidades C, PT e DR abrolharam uma semana mais cedo (estado B) do que as restantes; relativamente à floração (estado F), a 20 de abril o C também foi a modalidade mais antecipada; porém, a modalidade que apresentou um vingamento mais antecipado foi a modalidade DQ 30 (Quadro 7).

Quadro 7 Data da prevalência dos estados fenológicos em cada modalidade.

Modalidades	A	B	C	D	E/E2	F	F2	I	J
C	07/mar	24/mar	04/abr	07/abr	16/abr	20/abr	23/abr	29/abr	30/abr
CR	07/mar	31/mar	07/abr	16/abr	20/abr	23/abr	24/abr	30/abr	02/mai
DR	07/mar	24/mar	07/abr	16/abr	20/abr	22/abr	25/abr	1/mai	04/mai
DQ 30	07/mar	31/mar	07/abr	16/abr	20/abr	23/abr	25/abr	29/abr	02/abr
DQ 60	07/mar	31/mar	07/abr	16/abr	20/abr	22/abr	24/abr	29/abr	02/mai
PA	07/mar	31/mar	07/abr	16/abr	20/abr	22/abr	25/abr	29/abr	03/mai
PN	07/mar	31/mar	07/abr	16/abr	20/abr	23/abr	25/abr	30/abr	04/mai
PT	07/mar	24/mar	07/abr	16/abr	20/abr	23/abr	25/abr	29/abr	03/mai

A modalidade que apresentou uma floração mais prologada foi o DR (duração de oito dias), por outro lado as modalidades CR, DQ 30 e PT apresentaram uma floração mais curta (duração de cinco dias) (Quadro 8).

Como referido anteriormente, verificou-se uma floração antecipada no controlo, pois esteve em plena floração durante os dias 23 e 24 de abril; as últimas modalidades a entrarem em floração foram o CR e a DQ 60.

Verificou-se também que a vertente Poda teve um período entre o abrolhamento e o crescimento dos frutos mais longo. Por fim as restantes modalidades entraram em plena floração apenas a 25 de abril (Quadro 8).

Quadro 8 Fenologia desde o estado de botão branco até ao vingamento, a cinzento estão representados os dias de floração, a verde os dias em que as modalidades estiveram em plena floração e a azul o dia em que os frutos estavam maioritariamente vingados.

	20/abr	21/abr	22/abr	23/abr	24/abr	25/abr	26/abr	27/abr	28/abr	29/abr	30/abr	01/mai	02/mai	03/mai	04/mai
C	E2/F	F	F/F2	F2	F2	F2/G	G	H	H/I	I	J	J	J	J	J
CR	E	E2	E2	F	F2	F2	G	G/H	H/I	H	I	I/J	J	J	J
DR	E	E2	E2/F	F	F/F2	F2	F2/G	G	G	G/H	I/J	I	I/J	I/J	J
DQ 30	E	E/E2	E2	F	F/F2	F2	G	G/H	H/I	I	I/J	I/J	J	J	J
DQ 60	E	E2	E2/F	F	F2	F2	F2/G	G	H/I	I	I/J	I/J	J	J	J
PA	E	E2	E2/F	E2/F	F/F2	F2	G	G/H	H/I	I	I/J	I/J	I/J	J	J
PN	E	E/E2	E2	E2/F	F/F2	F2	F2/G	G	G/H	H	I	I	I/J	I/J	J
PT	E	E/E2	E2	E2/F	F/F2	F2	G	G/H	H	I	I/J	I/J	I/J	J	J

Importa referir que a preferência de uma floração curta e concentrada é relevante na gestão do pomar e nas medidas fitossanitárias. A gestão do pomar no sentido da antecipação pode ser muito útil, mas terá de ter em conta se o pomar se localiza em zona com risco de geada e para que data se está a apontar a antecipação.

Os dados meteorológicos indicam que, no intervalo de datas de floração da modalidade C, as condições apresentavam-se favoráveis para a ação polinizadora das abelhas. Apesar de ter existido alguma precipitação a temperatura esteve amena e mais elevada do que nos restantes intervalos de datas de floração (quadro 9).

Quadro 9 Média dos dados meteorológicos referentes ao intervalo de datas de cada modalidade.

Modalidades	Floração (dd/mm)	Temp. média (°C)	Radiação (KJ/m2)	Precipitação (mm)
C	20/4 a 26/4	16,6	199642,0	1,90
CR	23/4 a 27/4	15,4	223436,4	0,0
DR	22/4 a 29/4	14,4	206715,5	2,1
DQ 30	23/4 a 27/4	15,4	223436,4	0,00
DQ 60	22/4 a 27/4	15,6	213999,2	0,03
PA	22/4 a 27/4	15,6	213999,2	0,03
PN	23/4 a 28/4	14,6	210827,8	1,40
PT	23/4 a 27/4	15,4	223436,4	0,00

4.3.4 Crescimento de frutos

A medição semanal dos frutos com paquímetro iniciou-se 9 dias após a data de plena floração e finalizou-se no dia da colheita. Estatisticamente só se evidenciaram diferenças significativas a partir do dia 8 de junho de 2018, 41 dias após plena floração (Quadro 10).

No geral o controlo, DQ 30 e DR foram as que apresentaram um maior crescimento de frutos (Quadro 10).

Comparando com a média geral da parcela em estudo descaram-se duas modalidades com diâmetros inferiores, foram elas a PA e a PT (Figura 21).

Refletindo, a modalidade DR apresentou uma menor quantidade de corimbos (apesar de não ser significativa) relativamente às restantes modalidades (Quadro 5), produzindo fruta de elevado calibre (Quadro 10), provavelmente o facto de inicialmente ter poucos corimbos fez com que a fruta obtida fosse de melhor qualidade, devido à menor competição de reservas entre os frutos.

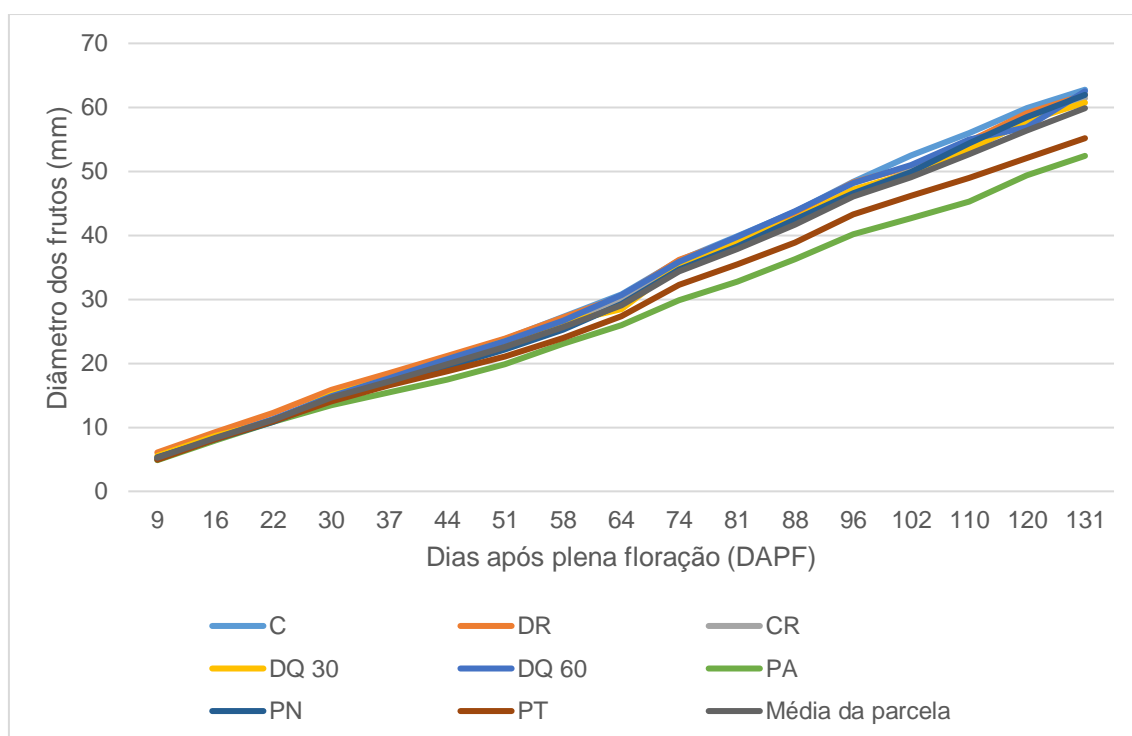


Figura 21 Crescimento dos frutos desde o vingamento até à data de colheita.

Quadro 10 Média dos diâmetros (mm) dos frutos previamente marcados em cada modalidade, medições executadas desde o vingamento até à colheita.

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=6$.

Modalidade S	04/mai	11/mai	17/mai	25/mai	01/jun	08/jun	15/jun	22/jun	29/jun	09/jul	16/jul	23/jul	31/jul	06/ago	14/ago	24/ago	04/set
<i>C</i>	5,3 a	8,4 a	11,3 a	14,7 a	17,1 a	20,9 a	23,8 ab	27,3 a	30,7 a	36,1 a	39,8a	43,7 a	48,4 a	52,4 a	56,0 a	59,9 a	62,8 a
<i>CR</i>	5,0 a	8,2 a	11,0 a	14,7 a	17,5 a	20,4 ab	23,1 ab	25,9 a	29,8 a	34,9 ab	38,4 ab	42,4 a	46,6 ab	50,1 ab	53,5 ab	57,8 ab	61,4 a
<i>DR</i>	6,1 a	9,3 a	12,2 a	15,9 a	18,5 a	21,2 a	23,9 a	27,2 a	30,5 a	36,1 a	39,4 ab	43,4 a	48,3 ab	50,8 ab	54,7 a	59,1 ab	62,0 a
<i>DQ 30</i>	5,5 a	8,7 a	11,0 a	15,0 a	17,5 a	20,5 ab	23,5 ab	26,4 a	28,5 a	35,3 ab	39,0 a	42,6 a	47,2 ab	49,8 ab	53,4 a	57,8 ab	60,7 a
<i>DQ 60</i>	5,0 a	8,3 a	11,2 a	14,8 a	17,6 a	20,6 ab	23,5 ab	26,7 a	30,6 a	35,9 ab	39,8 a	43,8 a	48,2 ab	51,0 ab	55,0 ab	56,9 ab	62,5 a
<i>PA</i>	4,9 a	8,0 a	10,9 a	13,5 a	15,4 a	17,4 b	19,8 b	23,1 a	26,0 a	29,9 b	32,8 b	36,3 a	40,2 b	42,6 b	45,3b	49,4 b	52,4 a
<i>PN</i>	5,3 a	8,1 a	10,9 a	14,4 a	16,8 a	19,4 ab	22,2 ab	25,3 a	29,3 a	34,7 ab	38,3 ab	42,4 a	46,6 ab	49,9 ab	54,4 ab	58,5 ab	62,0 a
<i>PT</i>	4,9 a	8,2 a	11,0 a	14,1 a	16,5 a	18,7 ab	21,0 ab	23,9 a	27,4 a	32,2 ab	35,5 ab	38,9 a	43,3 ab	46,1 ab	48,9 ab	52,1 ab	55,2 a
<i>Média da parcela</i>	5,3	8,4	11,2	14,6	17,1	20,0	22,6	25,7	29,1	34,4	37,9	41,7	46,1	49,1	52,7	56,4	59,9

4.3.4.1 Crescimento de frutos e peso associado

Com o contributo da tese de doutoramento do Doutor Miguel Leão (2013) foi possível estimar o peso dos frutos marcados, observados e medidos semanalmente, através da função $P = 0,0011 * D^{2,8328}$ (Figura 22).

É notável que as modalidades que apresentaram maior peso (Figura 22) correspondem às modalidades com diâmetros maiores (Figura 21).

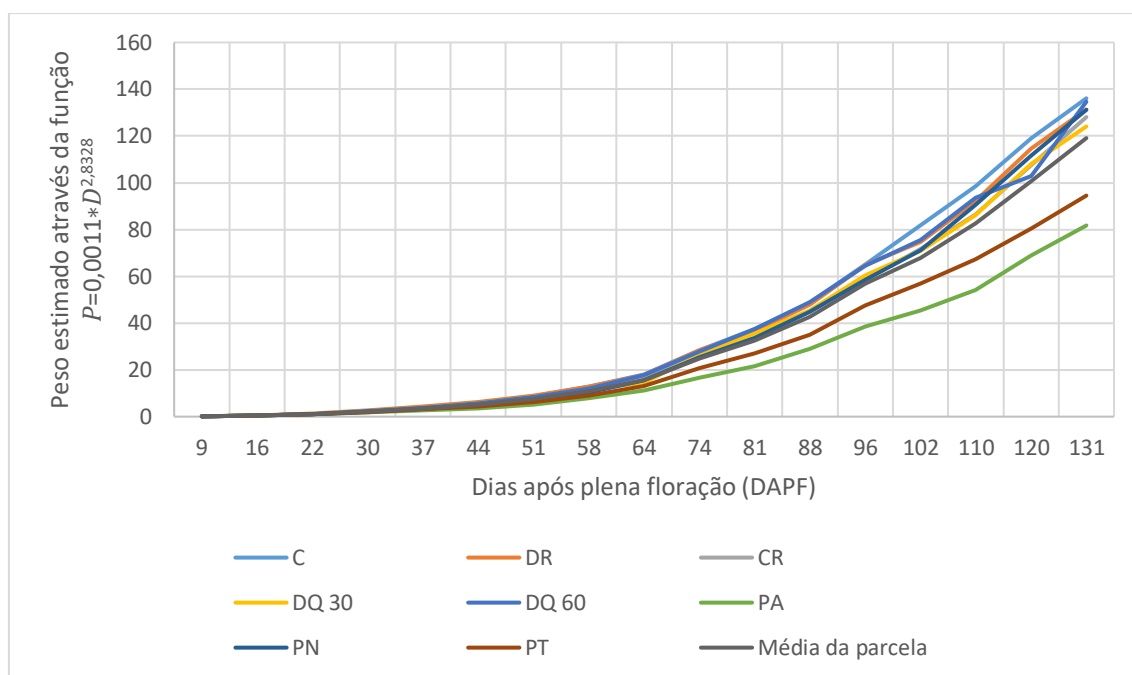


Figura 22 Estimativa do peso médio dos frutos e respetivo DAPF.

4.4 Análises da produção

4.4.1 Produção

As peras, colocadas em caixas de fruta previamente marcadas, foram pesadas por árvore e por modalidade. De modo a enriquecer o estudo mediu-se a área de secção dos troncos das árvores colhidas (AST) (Quadro 12). Assim foi possível obter valores relativos à quantidade média de fruta por árvore e à produção média, produção (kg de fruta por árvore) e índice de produtividade (kg/cm² AST) (Quadro 11).

Quadro 11 Número médio de frutos por árvore e respetiva produção por árvore.

Modalidade	Número médio de frutos por árvore	Produção (kg/árvore)
<i>C</i>	89,4 bc	12,65 ab
<i>CR</i>	108 abc	15,26 ab
<i>DR</i>	146,2 ab	20,83 a
<i>DQ 30</i>	132,6 ab	17,61 a
<i>DQ 60</i>	167,2 a	21,97 a
<i>PA</i>	106,2 abc	15,87 ab
<i>PN</i>	42 c	5,9 b
<i>PT</i>	85,4 bc	11,83 ab

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=5$.

Após a avaliação dos dados das AST de cada modalidade percebe-se que a modalidade com maior AST é a modalidade DR, assim é a modalidade com maior vigor. As modalidades com menor AST, e, portanto, provavelmente as menos vigorosas, foram o C e a DQ 60 (Quadro 12).

Quadro 12 AST média (5 árvores) e respetivo índice de produtividade de cada modalidade.

Modalidades	Área de secção do tronco (cm²)	Índice de produtividade (kg/cm²) AST
<i>C</i>	111,9 b	0,112 b
<i>CR</i>	140,9 ab	0,106 bc
<i>DR</i>	187,2 a	0,114 b
<i>DQ 30</i>	131,6 ab	0,138 ab
<i>DQ 60</i>	113 b	0,196 a
<i>PA</i>	139 ab	0,116 b
<i>PN</i>	160,8 ab	0,038 c
<i>PT</i>	160,9 ab	0,074 bc

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=5$.

A modalidade que apresentou uma menor área de secção do tronco (DQ 60) demonstrou ser a modalidade mais produtiva (Quadro 11). Este resultado poderá dever-se à necessidade de melhor investimento na parte vegetativa.

As modalidades que obtiveram uma quantidade de fruta por árvore acima da média (aproximadamente 110 frutos por árvore) foram a DQ 30, DR e a DQ 60 (Figura 23).

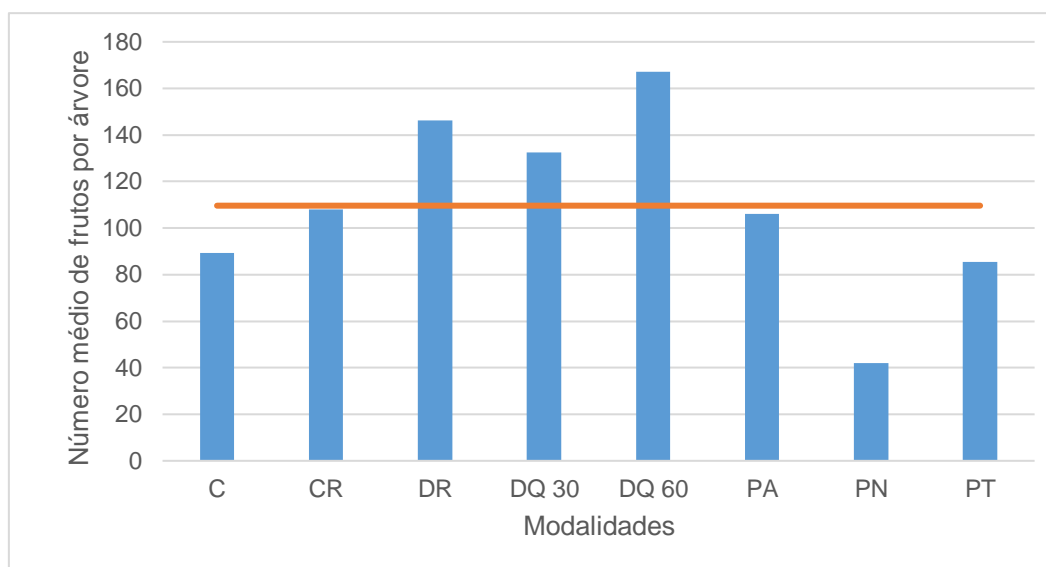


Figura 23 Número médio de frutos colhidos por árvore (kg) em cada modalidade; a laranja encontra-se a média obtida através dos valores da parcela.

A modalidade DR esteve sempre acima da média global da parcela, ao contrário da modalidade PN que ficou no fim da tabela apresentando valores muito baixos tanto a nível de quantidade de fruta por árvore como de produção (Figuras 23 e 24). Estes dados sugerem que este ensaio deve ser repetido para que seja possível confirmar estes dados.

Através do índice de produtividade é possível perceber que apenas as modalidades DQ 60 e DQ 30 permanecem acima da média da parcela. Porém a modalidade PA que aparece acima da média, no entanto não é significativamente relevante (Figura 24 lado direito).

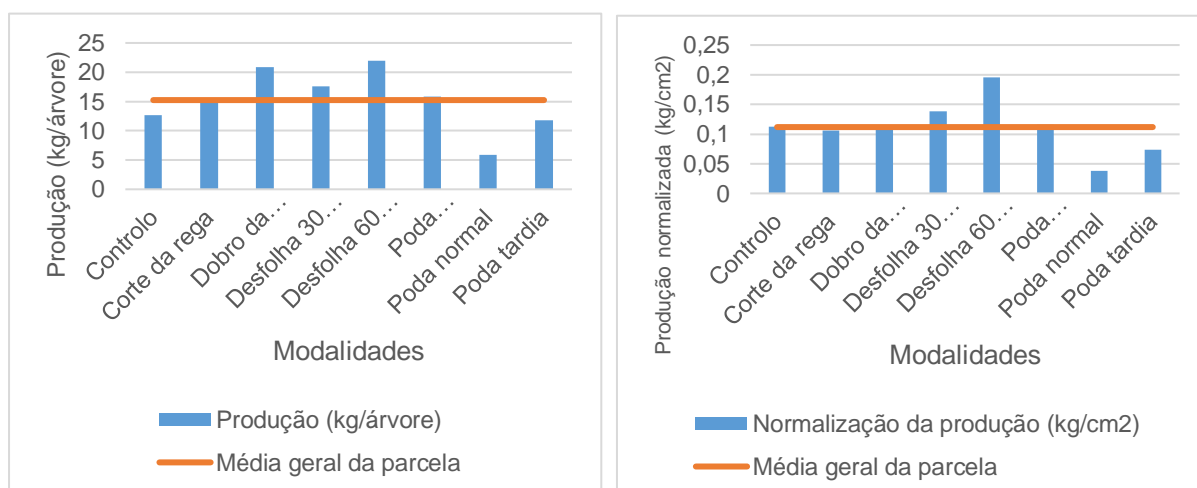


Figura 24 Produtividade (kg/árvore), índice de produtividade (kg/cm²) de cada modalidade e respetiva média das parcelas.

4.4.2 Peso médio unitário

Não existem diferenças significativas relativamente ao peso da fruta (uma unidade) por modalidade (quadro 13). O peso médio de uma fruta de calibre 60/65mm está entre 123g a 153g (ANP, 1997), isto indica-nos que a maior parte das frutas colhidas são de calibre médio (o mais comerciável).

Quadro 13 Peso (kg) médio por fruta por modalidade.

Modalidades	Peso médio por fruta (kg)
<i>C</i>	0,142 a
<i>CR</i>	0,133 a
<i>DR</i>	0,133 a
<i>DQ 30</i>	0,141 a
<i>DQ 60</i>	0,141 a
<i>PA</i>	0,150 a
<i>PN</i>	0,141 a
<i>PT</i>	0,139 a

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha=0,05$ e $n=5$.

4.4.3 Calibre

‘O calibre mais comum em anos considerados de produção normal e que abrange cerca de 30 % da produção é o calibre 60/65mm’ (ANP, 1997).

A modalidade que apresentou a maior percentagem de frutos de calibre 60-65mm foi a DQ 60, a menor percentagem pertence à PN (Quadro 14).

O mercado tem preferência por fruta de qualidade, este parâmetro é diferente de mercado para mercado existindo mercados que prevalecem frutos com calibre 60 (mm), enquanto outros preferem frutos com calibre acima de 70. Dividiram-se dois grupos: calibre >60mm e calibre >70mm. Verificou-se que, quantitativamente (Quadros 15), a modalidade DQ 60 denominou no calibre >60, porém, percentualmente (Quadros 14) a PA apresentou valores maiores. A modalidade PA, apesar de não ter tido uma produção elevada, apresentou fruta de calibres maiores especula-se que houve uma menor competição de reservas. A modalidade DR obteve uma maior quantidade de fruta com calibre >70 (ver também anexo VI, figura 40).

Quadro 14 Percentagem de frutos por calibre em cada modalidade colhida.

<i>Modalidades</i>	45-50	50-55	55-60	60-65	65-70	70-75	75-80	>80	total>60	total >70
<i>C</i>	6,0	2,0	18,6	41,2	20,6	11,0	0,4	0,2	73,4	11,6
<i>CR</i>	3,1	2,4	23,0	42,2	22,2	7,0	0,0	0,0	71,5	7,0
<i>DR</i>	2,2	4,0	22,6	40,7	19,3	11,1	0,1	0,0	71,3	11,3
<i>DQ 30</i>	2,6	3,8	27,1	40,3	16,7	8,9	0,6	0,0	66,5	9,5
<i>DQ 60</i>	3,9	3,6	27,2	46,7	14,2	4,3	0,1	0,0	65,3	4,4
<i>PA</i>	1,1	2,4	16,0	46,5	22,8	10,4	0,8	0,0	80,4	11,1
<i>PN</i>	2,4	6,2	29,5	37,1	16,7	8,1	0,0	0,0	61,9	8,1
<i>PT</i>	4,4	2,6	22,5	41,0	23,2	5,4	0,9	0,0	70,5	6,3

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=5$.

Quadro 15 Quantidade de frutos colhidos por modalidade e calibre.

<i>Modalidades</i>	45-50	50-55	55-60	60-65	65-70	70-75	75-80	>80	Total>60	Total >70
<i>C</i>	5,4 a	1,8 a	16,6 b	36,8 bc	18,4 ab	9,8 ab	0,4 a	0,2 a	65,6	10,4
<i>CR</i>	3,4 a	2,6 a	24,8 ab	45,6 abc	24 a	7,6 ab	0 a	0 a	77,2	7,6
<i>DR</i>	3,2 a	5,8 a	33 ab	59,6 ab	28,2 a	16,2 a	0,2 a	0,07 a	104,3	16,5
<i>DQ 30</i>	3,4 a	5 a	36 ab	53,4 ab	22,2 ab	11,8 ab	0,8 a	0 a	88,2	7,4
<i>DQ 60</i>	6,6 a	6 a	45,4 a	78 a	23,8 ab	7,2 ab	0,2 a	0 a	109,2	12,6
<i>PA</i>	1,2 a	2,6 a	17 b	49,4 abc	24,2 a	11 ab	0,8 a	0 a	85,4	11,8
<i>PN</i>	1 a	2,6 a	12,4 b	15,6 c	7 b	3,4 b	0 a	0 a	26	3,4
<i>PT</i>	3,8 a	2,2 a	19,2 b	35 bc	19,8 ab	4,6 b	0,8 a	0 a	60,2	5,4

4.4.4 Análises de qualidade

Em cada árvore colhida retirou-se 10 frutos para execução de análises de qualidade. Concluiu-se que não existiram diferenças significativas nas categorias, peso e sementes verdadeiras.

‘Em termos gerais, a Pera Rocha do Oeste apresenta um calibre médio de 60 a 65mm, ao qual corresponde um peso que varia entre 123 a 153g.’ (ANP, 1997), esta afirmação foi confirmada, todas as amostras apresentavam pesos médios neste intervalo.

Segundo Caderno de Especificações da Associação Nacional de Produtores de pera ‘Rocha’ (1997) o índice refratométrico da fruta, quando em perfeito estado de colheita, deverá estar no intervalo 12 – 14 %. Assim, concluímos que a única modalidade que não apresentava a quantidade de sólidos solúveis característicos da cultivar à colheita foi a modalidade DR, esta apresentou valores Brix significativamente mais baixos quando comparado com as restantes modalidades (Quadro 16). Sugerindo a

algum efeito de diluição de açúcares (sólidos solúveis), possivelmente, devido ao maior conforto hídrico da planta.

Apesar de haver diferenças significativas relativamente à média das durezas da amostra (10 frutas de calibre 60/65mm) colhida em cada modalidade, todas as modalidades estavam em perfeito estado de colheita, uma vez que, à colheita a polpa deve ter uma dureza entre 5,5 e 6,5 kg/0,5 cm² (ANP, 1997). Ainda assim, a modalidade PA apresentava uma dureza maior do que as restantes modalidades, traduzindo eventualmente num estado de maturação menos avançado; por outro lado, a modalidade DQ 30 foi a que apresentou uma dureza inferior na parcela em estudo, refletindo um maior avanço na maturação.

As sementes também foram observadas, porém não se fez nenhuma modalidade referente à polinização, mesmo assim as sementes (verdadeiras e as rudimentares) foram contabilizadas. Concluiu-se a inexistência de diferenças significativas relativamente à quantidade de sementes rudimentares presentes nas amostras de cada modalidade. No entanto, a modalidade C apresenta uma maior quantidade significativa de sementes verdadeiras, por outro lado as modalidades com menor número de sementes verdadeiras foram o DR e DQ 60 (Quadro 16).

A modalidade C apresentou uma floração antecipada, observando os dados meteorológicos respetivos ao intervalo de datas da floração, sabe-se que a média de temperatura foi de 16,6°C e com precipitação média de 1,9mm, deste modo é plausível afirmar que durante estes dias as condições foram favoráveis para a ação das abelhas polinizadoras (Quadro 9).

Quadro 16 Análises de qualidade dos 10 frutos recolhidos por modalidade com calibre 60-65mm.

Modalidades	Peso (g)	Diâmetro/Altura	Brix (%)	Dureza média (kg/0,5cm²)	Número de sementes	
					rudimentares	verdadeiras
<i>C</i>	136,13 a	0,83	12,4 a	6,3 ab	7,3 a	1,1 a
<i>CR</i>	138,35 a	0,83	12,0 ab	5,9 ab	7,9 a	0,5 ab
<i>DR</i>	142,57 a	0,81	11,4 b	6,1 ab	8,5 a	0,2 b
<i>DQ 30</i>	138,53 a	0,84	12,3 a	5,6 b	7,8 a	0,6 ab
<i>DQ 60</i>	136,75 a	0,84	12,3 a	6,0 ab	8,3 a	0,2 b
<i>PA</i>	139,19 a	0,83	12,0 ab	6,3 a	8,4 a	0,4 ab
<i>PN</i>	137,81 a	0,84	12,3 a	6,1 ab	7,8 a	1,0 ab
<i>PT</i>	142,56 a	0,83	12,1 ab	6,1 ab	7,8 a	0,7 ab

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=10$.

4.5 Abordagens laboratoriais

4.5.1 Determinação de hidratos de carbono

A determinação de hidratos de carbono foi dividida em quantificação de açúcares de baixo peso molecular e doseamento de amido, o primeiro pelo método da antrona e a segunda por via enzimática.

4.5.1.1 Determinação de hidratos de carbono de baixo peso molecular com recurso à antrona

Estas determinações foram efetuadas em dois órgãos vegetativos: folhas e ramos.

4.5.1.1.1 Órgão vegetativo: Folhas

Através dos valores médios de hidratos de carbono de baixo peso molecular de todas as modalidades verificou-se que não existe uma tendência (Quadro 17), verificando-se uma flutuação dos valores ao longo do tempo. Este comportamento era esperado pois não se trata de açúcares de reserva, mais estáveis, mas sim de açúcares de acumulação transiente.

Quadro 17 Médias obtidas (g de Glucose/ g de matéria seca), em todas as modalidades ao longo do tempo através do teste de antrona.

Modalidades	15/set	22/set	29/set	06/out	27/out	23/nov	07/dez	22/dez
<i>Parcela em estudo</i>	0,06	0,272	0,203	0,076	0,293	0,186	0,449	0,073

Posteriormente à colheita, o teor de hidratos de carbono nas folhas aumentou, resultado que poderá estar relacionado com o facto das árvores já não terem fruta e as folhas terem sofrido alguma alteração fisiológica, e assim, houve aumento das reservas; segundo o que constataram Hussain *et al.* 2016, Scheres *et al.*, 2017 e Fadón *et al.*, 2018 também poderá ter havido um decréscimo brusco da temperatura, e, para a planta não sofrer choque térmico, o amido foi convertido em hidratos de carbono de baixo peso molecular, açúcares.

A rega no pomar foi cortada a 13 de outubro de 2017, duas semanas depois ocorre um acréscimo de hidratos de carbono, este facto poderá dever-se ao decréscimo do teor de água na planta resultando numa maior concentração ou, a uma menor atividade fisiológica.

O maior pico de hidratos de carbono na parcela ocorre quando o pomar apresentou uma taxa de queda da folha aproximadamente de 100%, provavelmente os açúcares resultaram da reação de degradação enzimática do amido, este é acumulado durante o verão para ser transformado em açúcares durante o inverno.

Na última data, quando o pomar está prestes a entrar em dormência, observou-se valores idênticos aos do controlo inicial da parcela, muito baixos (Figura 25).

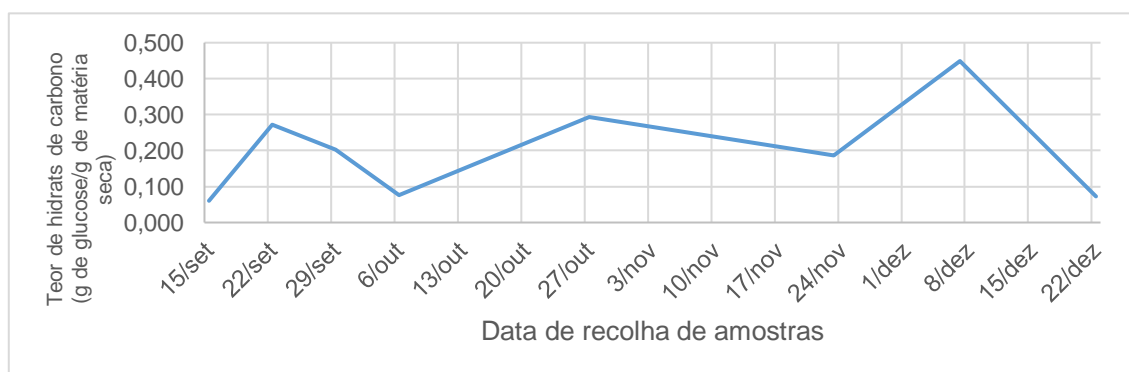


Figura 25 Oscilações dos hidratos de carbono em folhas ao longo da evolução da senescência; valores baseados nas médias das amostras analisadas em cada data de recolha.

A modalidade DQ 30 apresentou que, no geral, valores de hidratos de carbono elevados. Até 27 de outubro de recolha de amostras não houve diferenças significativas entre as modalidades, porém com a entrada da modalidade DQ 60, surgiram diferenças significativas. Após a análise laboratorial esta última modalidade implementada foi notável uma quantidade de hidratos de carbono superior às restantes, provavelmente devido à atividade fisiológica mantida durante mais tempo.

Quando as árvores estavam quase totalmente senescentes (a 7 de dezembro de 2018) a modalidade que apresentava valores elevados de hidratos de carbono foi a modalidade DR, por outro lado a modalidade que apresenta uma menor quantidade de hidratos de carbono é a DQ 30. Reportando estes valores aos de SPAD (quadro 1) no dia 10 de novembro, verifica-se uma coerência, a modalidade DR apresentou valores de clorofila elevados, este facto sugere a existência de uma maior acumulação de reservas na planta e atividade fisiológica ativa.

Seguindo o raciocínio, e verificando os dados da modalidade DQ 30 com valores de hidratos de carbono mais baixos, sugere-se também a existência de correlação com os valores de SPAD. Apesar de não ser a modalidade que apresenta unidades de SPAD mais baixas, tem valores significativamente inferiores à modalidade DR, reportado para uma possível atividade metabólica mais estagnada (quadro 18).

Quadro 18 Valores de hidratos de carbono (g de glucose/g de matéria seca – folhas) por modalidade ao longo do ensaio.

Modalidades	22/set	29/set	06/out	13/out	27/out	10/nov	23/nov	07/dez	22/dez
C	0.294 a	0.225 a	0.022 a	0.339 a	0.173 b	0.017 a	0.241 ab	0.017 a	0.077 ab
CR	0.276 a	0.281 a	0.059 a	0.168 a	0.105 b	0.303 a	0.142 b	0.303 a	0.066 ab
DR	0.195 a	0.168 a	0.162 a	0.404 a	0.060 b	1.259 a	0.178 b	1.259 a	0.150 a
DQ 30	0.323 a	0.137 a	0.064 a	0.616 a	0.170 b	0.184 a	1.783 a	0.185 a	0.071 ab
DQ 60					0.421 a	0.563 a	1.181 ab	0.563 a	0.028 b
PA									0.049 ab

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=10$.

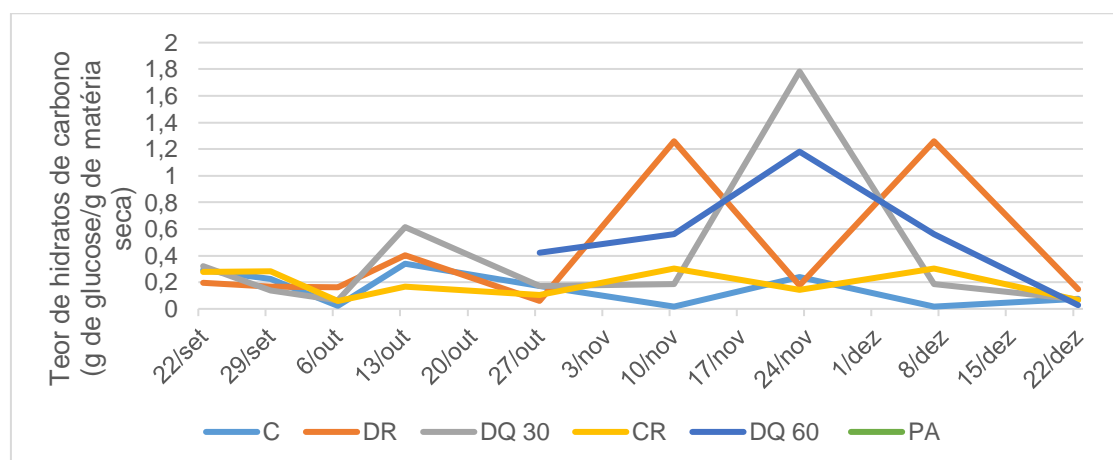


Figura 26 Quantidade de g de glucose/g de matéria seca (folhas) ao longo do tempo.

A figura 27 representa a relação obtida entre a média de quantidade de hidratos de carbono de baixo peso molecular presentes nas árvores durante o intervalo de 27 de outubro de 2017 e 22 de dezembro de 2017 (período pós colheita) e dos respetivos valores de produção (kg/árvore).

Verifica-se a existência de uma correlação positiva entre as modalidades com maior quantidade destes hidratos de carbono durante o período pós colheita (DR e DQ 60) e a sua respetiva produção no ano seguinte (2018) (quadro 19). Poderá ser um bom indicador para previsão da produção potencial, porém são necessários mais estudos para que seja possível garantir a veracidade deste facto, havendo ainda que ter em conta a instabilidade da concentração dos açúcares redutores nos órgãos vegetativos.

Quadro 19 Média dos hidratos de carbono (HC) (g de glucose/g de matéria seca – folhas) presentes no período pós colheita e respetiva produção do ano seguinte (kg/árvore).

Modalidades	Média HC (g/g)	Produção (kg/árvore)
<i>C</i>	0,11	12,65
<i>CR</i>	0,1838	15,26
<i>DR</i>	0,5812	20,83
<i>DQ 30</i>	0,4786	17,61
<i>DQ 60</i>	0,5512	21,97

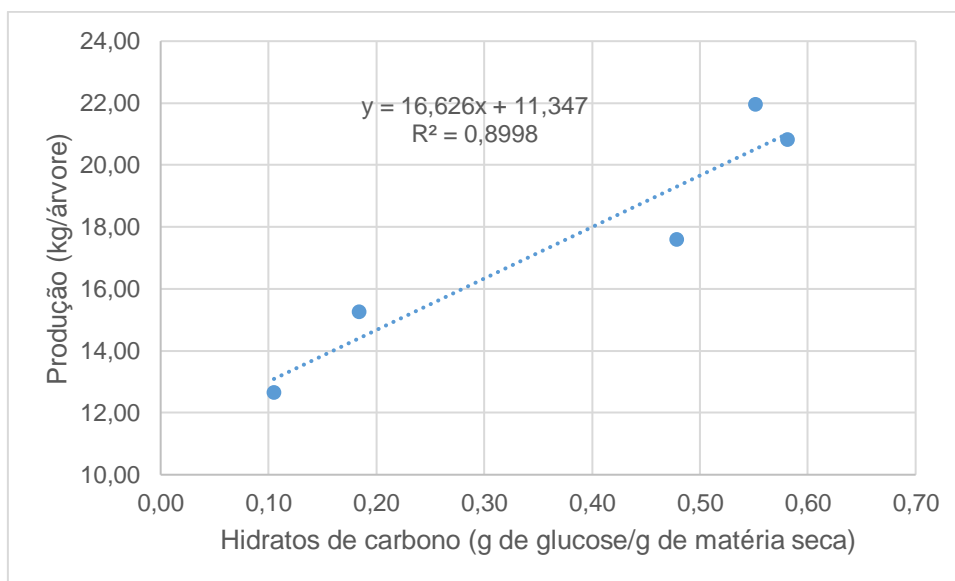


Figura 27 Relação produção de hidratos de carbono no período pós colheita (2017) com a produção do ano 2018.

4.5.1.1.2 Órgão vegetativo: Ramos

Fez-se a determinação dos açúcares simples em amostras de ramos, os resultados estão resumidos no quadro 20. De modo a que seja mais notável qualquer

tendência calculou-se as médias dos valores obtidos em g de glucose/g de matéria seca (ramos) de toda a parcela nas datas de recolha.

Quadro 20 Médias dos valores obtidos, g de Glucose/ g de matéria seca (ramos), em todas as modalidades ao longo do tempo através do método do teste de antrona.

Modalidades	15/set	27/out	07/dez	07/fev	26/mar
<i>Parcela em estudo</i>	0,031	0,036	0,025	0,042	0,028

É de salientar que os valores são muito mais baixos dos que os obtidos nas folhas, o que esta de acordo devido ao facto das folhas serem o órgão de síntese.

Após a colheita a parcela apresentou uma quantidade de hidratos de carbono média, durante a queda da folha houve aumento de hidratos de carbono, porém, quando as plantas entraram em dormência a quantidade de hidratos de carbono sofreu uma queda (dezembro). Quando as plantas estavam em endodormência a quantidade de hidratos de carbono foi máxima, de seguida decresceu novamente (última data de recolha de amostras) quando os gomos denunciaram o início da quebra de dormência (Figura 28).

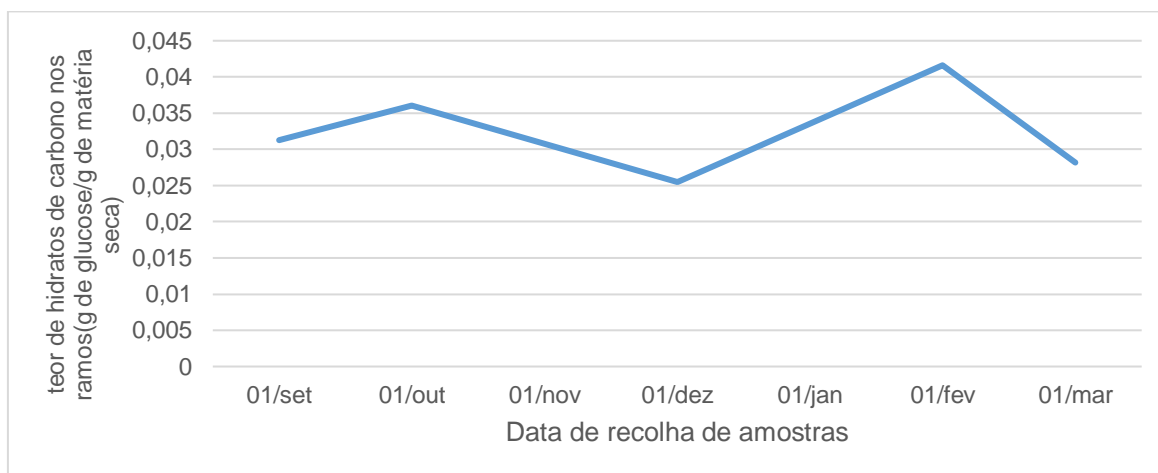


Figura 28 Oscilações dos hidratos de carbono em ramos ao longo da senescência e dormência até à fase de abrolhamento; valores baseados nas médias das amostras analisadas em cada data de recolha.

Com o auxílio da figura 28 é perceptível as oscilações de hidratos de carbono de baixo peso molecular ao longo do tempo.

Analisando os valores individuais de cada modalidade verifica-se que só houve diferenças significativas na data de recolha de 27 de outubro de 2017, onde a modalidade DR apresentou ser a modalidade com maior quantidade de hidratos de carbono (Quadro 21), denotando talvez ainda maior atividade metabólica.

Percebe-se que a modalidade DR destaca-se da data logo após o corte geral da rega no pomar (16 de outubro de 2017), provavelmente devido ao conforto hídrico mantendo-se a atividade fisiológica durante mais tempo (Figura 29).

Quadro 21 Valores de hidratos de carbono (g de glucose/g de matéria seca – ramos) por modalidade ao longo do ensaio.

Modalidades	15/set	27/out	07/dez	07/fev	26/mar
C	0,031	0,024 b	0,020 a	0,040 a	0,028 a
CR		0,029 ab	0,019 a	0,025 a	0,028 a
DR		0,072 a	0,018 a	0,054 a	0,028 a
DQ 30		0,021 b	0,025 a	0,041 a	0,025 a
DQ 60		0,034 ab	0,046 a	0,046 a	0,022 a
PA				0,030 a	0,024 a
PN				0,055 a	0,020 a
PT					0,050 a

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=5$.

A 7 de fevereiro todas as modalidades sofreram um aumento, umas mais acentuadas do que outras. Na última data de análise a modalidade CR sofreu um decréscimo de hidratos de carbono de baixo peso molecular, por outro lado a modalidade PT que apresentou valores elevados relativamente às restantes modalidades.

Não esquecer que a modalidade PT tinha entrado no projeto na última data de amostras, acabando por ser como um novo controlo, mantendo a atividade fisiológica mais tempo.

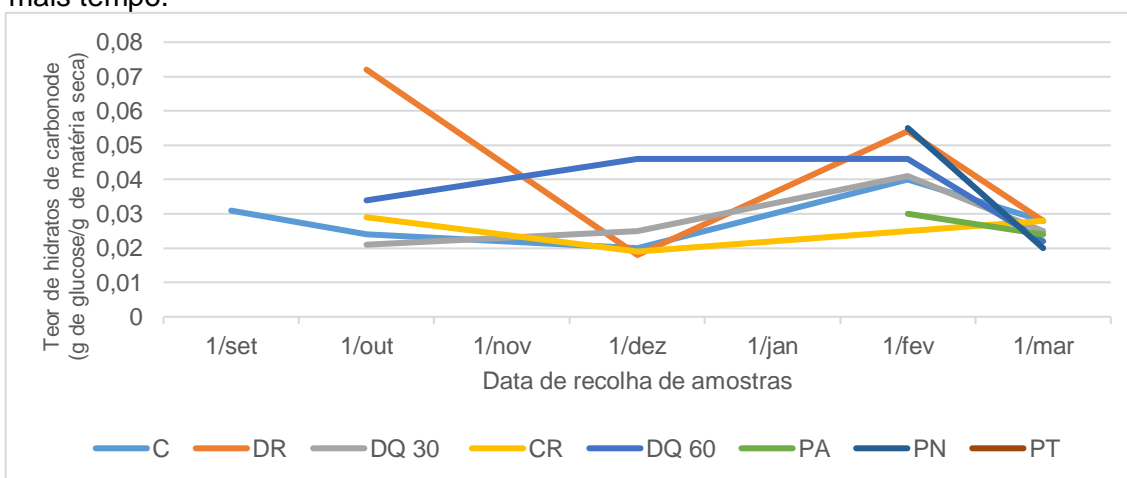


Figura 29 Quantidade de açúcares de baixo peso molecular em ramos.

4.5.1.2 Quantificação de amido em folhas e ramos

À semelhança do que foi feito com os açúcares de baixo peso molecular fez-se também no amido em folhas e ramos.

4.5.1.2.1 Órgão vegetativo – Folhas

Primeiramente fez-se uma análise global dos valores de modo a perceber qual a tendência de aumento de amido ao longo do tempo (Quadro 22).

Quadro 22 Média de todas as modalidades em três datas diferentes em gramas de amido por 100g de matéria seca (folhas).

Modalidades	15/set	10/nov	21/dez
<i>Parcela em estudo</i>	0,39	0,41	0,55

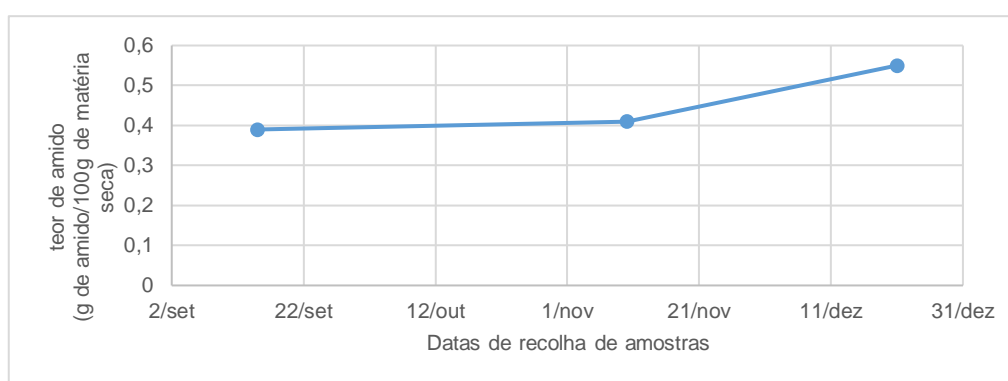


Figura 30 Teor de amido em g por 100g de matéria seca em folhas ao longo do tempo.

Nas datas analisadas (entrada em senescência e de seguida em dormência) identificou-se uma tendência para o aumento do teor de amido em folhas, ou seja, até que as folhas permaneceram na árvore as reservas de amido foram aumentando gradualmente (Figura 30), tal como esperado.

As modalidades foram analisadas e a análise estatística revelou que não existem diferenças significativas do teor de amido entre modalidades nas amostras de folhas (quadro 23). Todavia, constata-se que ao longo do tempo a concentração de amido nas folhas foi aumentando em todas as modalidades (Figura 31), portanto todas seguem a tendência geral da parcela (Figura 30).

Quadro 23 Resultados estatísticos obtidos no programa R referentes à quantidade de amido (g) presente em 100g de amostra seca de folhas.

Modalidades	10/nov	21/dez
C	0,419 a	0,562 a
CR	0,317 a	0,494 a
DR	0,468 a	0,570 a
DQ 30	0,383 a	0,589 a
DQ 60	0,462 a	0,507 a
PA		0,572 a

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$ e $n=5$.

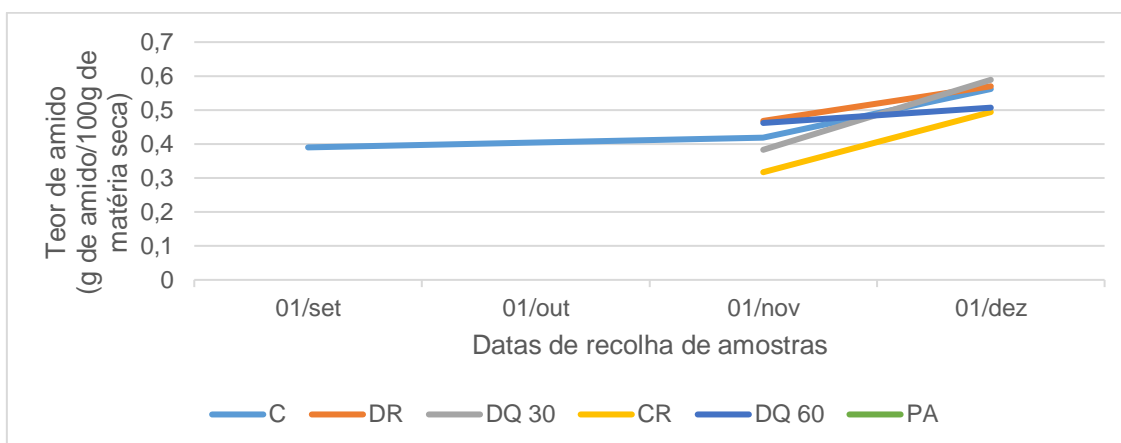


Figura 31 Aumento de amido nas folhas ao longo do tempo em cada modalidade.

4.5.1.2.2 Órgão vegetativo – Ramos

Tal como foi feito com as amostras de folhas, também com as amostras de ramos foi feita uma análise global com o objetivo de perceber se havia tendência.

Verifica-se que os teores de amido foram superiores nos ramos do que nas folhas nas datas equivalentes, porém tiveram tendência a decrescer (Quadro 24).

Quadro 24 Média de todas as modalidades em cinco datas diferentes em gramas de amido por 100g de matéria seca em ramos.

Modalidades	15/set	27/out	07/dez	07/fev	26/mar
Parcela em estudo	0,83	0,72	0,61	0,42	0,40

Após a análise das amostras identificou-se a existência de uma tendência para o decréscimo de amido nos ramos desde a senescência até ao abrolhamento (Figura 32). Este decréscimo poderá significar que o amido é translocado para outros órgãos de função de reserva (exemplo, raízes) e/ou consumidos pelas folhas.

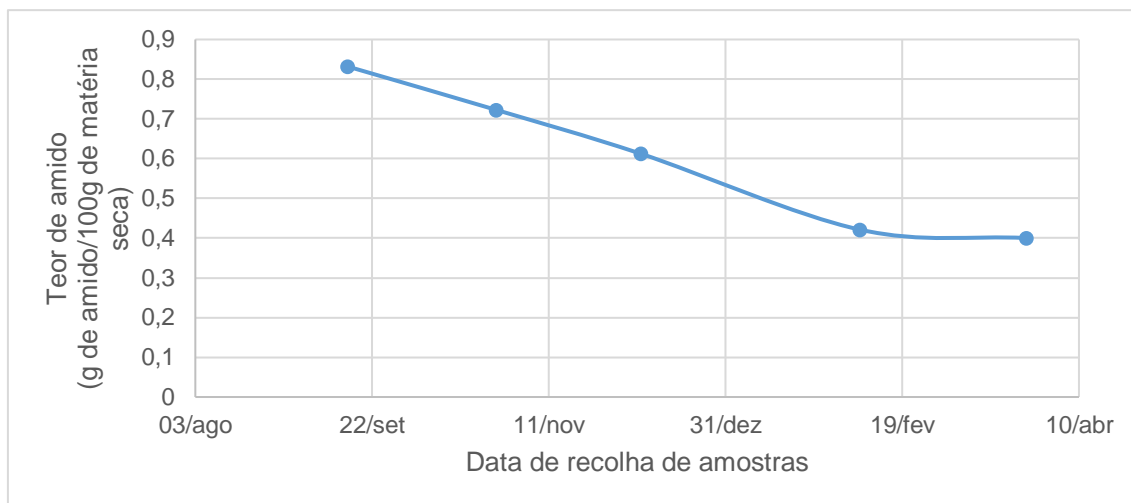


Figura 32 Teores de amido em ramos desde a colheita até ao abrolhamento.

Entre as modalidades, a 27 de outubro de 2017 não houve diferenças significativas, só começaram a surgir diferenças significativas a 7 de dezembro de 2017, onde a modalidade com valores mais elevados de amido foi DQ 30.

A PA na data 7 de dezembro de 2018, uma semana antes da senescência total, foi a modalidade com menor percentagem de amido, deveria estar idêntica à modalidade controlo, porém apresentava valores significativamente inferiores. Esta situação pode estar relacionada com o facto de ter tido mais órgãos a consumir/produzir reservas, uma vez que as outras modalidades foram manipuladas, todas as semanas retirou-se 2 verdascas por árvore (Quadro 25).

Quadro 25 Resultados estatísticos obtidos no programa R referentes à quantidade de amido (g) presente em 100g de amostra seca (órgão: ramos).

Modalidades	27/out	07/dez	07/fev	26/mar
C	0,851 a	0,605 ab	0,301 ab	0,423 a
CR	0,833 a	0,591 ab	0,268 b	0,340 a
DR	0,770 a	0,574 ab	0,489 ab	0,412 a
DQ 30	0,591 a	0,938 a	0,434 ab	0,389 a
DQ 60	0,569 a	0,642 ab	0,394 ab	0,355 a
PA		0,326 b	0,462 ab	0,384 a
PN			0,601 a	0,446 a
PT				0,452 a

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$, $n=5$.

Globalmente é perceptível o decréscimo de amido nos ramos em todas as modalidades (Figura 33).

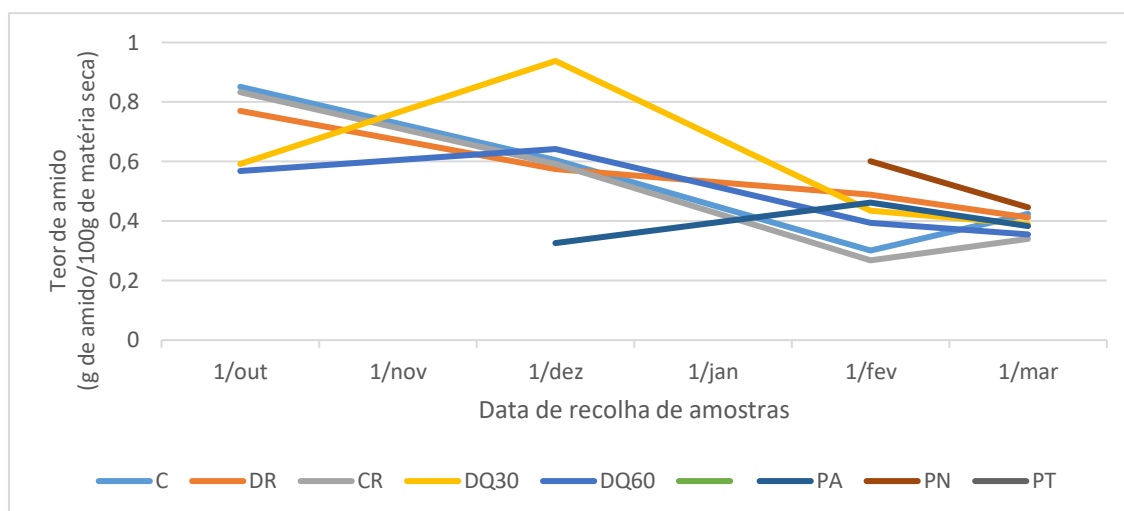


Figura 33 Quantidade de amido (g de amido em 100g de matéria seca – ramos) ao longo do tempo.

O valor mais alto observado pela modalidade DQ 30 a 7 de dezembro poderá indicar que houve migração das reservas mais cedo.

4.5.2 Teor de proteínas – teste Bradford

Determinaram-se os teores de proteínas solúveis totais em folhas, ramos e gomos, como medição indireta da atividade metabólica.

4.5.2.1 Órgão vegetativo: Folhas

Foram selecionadas duas datas de amostras (folhas). Na primeira data (13/out) a modalidade CR apresentou uma maior quantidade de proteínas (mg de proteínas/ g de matéria seca), porém, na segunda, data a modalidade DQ 30 prevaleceu às restantes modalidades (Quadro 26).

Quadro 26 Proteínas (miligramas de proteínas por gramas de matéria seca) presentes nas folhas nas datas referidas.

Modalidades	13/out	23/nov
C	1,36 b	1,39 c
CR	2,00 a	1,78 ab
DR	1,86 ab	1,50 bc
DQ 30	1,60 ab	1,833 a
DQ 60		1,81 ab

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$, $n=10$.

Foi ainda possível perceber que as modalidades da vertente 'Rega' sofreram um decréscimo proteico, o C não sofreu alterações, e a vertente 'Desfolha química' foi a que apresentou um aumento proteico. Tanto a DQ 30 como a DQ 60 apresentaram maior quantidade de proteínas na segunda data de recolha de amostras em comparação com as restantes modalidades (Figura 34).

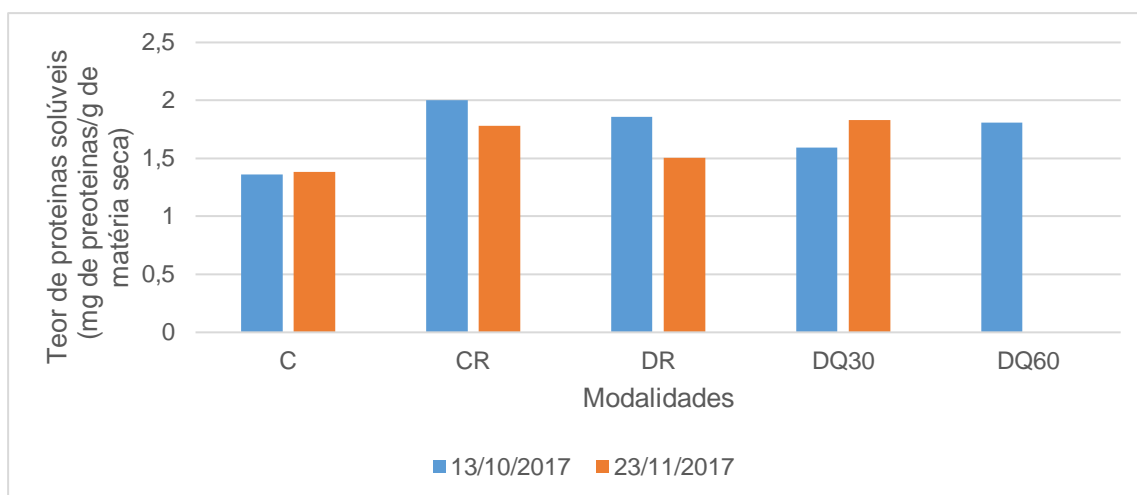


Figura 34 Quantidade de proteínas presentes nas folhas em duas datas de recolha de amostras.

Estes valores não revelaram nenhuma relação clara com o processo de senescência.

4.5.2.2 Órgão vegetativo: Gomos

Após a análise estatística com o programa R concluiu-se que a modalidade DQ 30 apresenta uma quantidade de proteínas mais elevada inicialmente, que vai decrescendo ao longo do tempo, como seria de esperar (maior senescência menos atividade). Porém a modalidade C começa por apresentar valores mais baixos inicialmente, mas a 26 de março de 2018 (última data de recolha de amostras) é a modalidade que apresenta valores proteicos mais elevados. A vertente 'Poda' tende a apresentar grandes quantidades de proteínas (Quadro 27).

Não houve uma tendência global, no entanto podemos concluir que a 28 de fevereiro de 2018 as modalidades sofreram um aumento proteico, porém na última data de recolha de amostras todas elas apresentaram um decréscimo. Estas condições não são válidas para a modalidade PA

As árvores manipuladas tanto com o dobro da dotação da rega como com a aplicação de um desfolhante 30 e 60 dias após a colheita tiveram uma resposta positiva no que diz respeito à síntese proteica (Figura 35).

Quadro 27 Proteínas (miligramas de proteínas por gramas de matéria seca) presentes nos gomos.

Modalidades	13/out	23/nov	25/jan	28/fev	26/mar
<i>C</i>	0,42 c	0,10 c	1,25 c	1,81 ab	1,62 a
<i>CR</i>	1,14 b	0,95 b	1,29 c	1,67 b	1,02 b
<i>DR</i>	0,85 b	1,30 a	1,23 c	2,23 a	1,42 ab
<i>DQ 30</i>	1,59 a	1,58 a	1,62 b	1,85 ab	1,41 ab
<i>DQ 60</i>		1,52 a	1,26 c	1,84 ab	1,52 ab
<i>PA</i>			2,01 a	1,57 b	1,68 a
<i>PN</i>				2,20 a	1,53 a
<i>PT</i>					1,42 ab

Letras diferentes em coluna traduzem médias significativamente diferentes pelo teste Tukey com $\alpha = 0,05$, $n=10$.

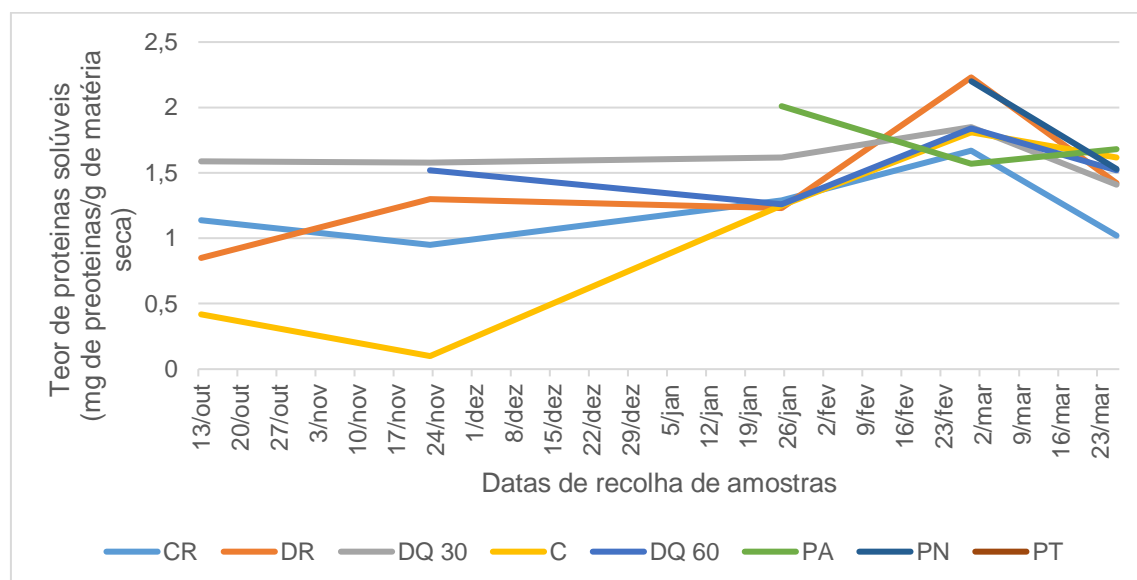


Figura 35 Quantidade de proteínas presentes nos ramos.

Estas determinações não se constituíram como o indicador útil da atividade metabólica das árvores, talvez porque as proteínas solúveis totais sejam o resultado de muitas fontes de proteína não se conseguindo estabelecer uma relação direta entre as determinações efetuais e o processo fisiológico de senescência e entrada em dormência.

5 Conclusão e perspectivas futuras

Este estudo procurou analisar o efeito de diferentes práticas culturais na entrada e na saída de dormência, bem como na fenologia e produção de pereira 'Rocha'. Este aspeto é de particular interesse na região Oeste de Portugal, onde por vezes há dificuldade no cumprimento das necessárias 550h de frio (temperaturas abaixo de 7,2°C). No pomar da Quinta Nova, em Alcobaça, testaram-se modalidades envolvendo práticas diferentes de desfolha, de poda e de rega, analisando-se vários parâmetros no pomar (intensidade da queda, SPAD, RWC), no laboratório (teores de amido, açúcares solúveis e proteínas solúveis) e na central (calibre, Brix e dureza). Contabilizaram-se as horas de frio obtidas na zona de Alcobaça durante o período de 1 de outubro a 15 de fevereiro, concluindo que, a parcela de cultivar 'Rocha' estudada neste projeto satisfaz as horas de frio em 156%, portanto as condições climáticas neste ano não foram desfavoráveis à atividade fisiológica na planta para o processo de quebra de dormência.

A senescência da folha indica a estagnação da atividade fisiológica da planta. Durante o ensaio, constatou-se que as modalidades tinham tido diferenças significativas relativamente à intensidade de queda de folha. As modalidades da vertente 'Desfolha química' foram as que apresentaram uma senescência mais acentuada, nomeadamente, a modalidade onde foi aplicado precocemente o desfolhante (DQ 30) apresentou uma intensidade maior.

Relativamente à quebra de dormência (avaliada pela atividade visível dos gomos e data de abrolhamento), verificou-se que um abrolhamento precoce, seguido de uma floração antecipada não é indicativo de vingamentos antecipados; a modalidade C reflete esta constatação. As modalidades que sincronizaram melhor a fenologia em torno da floração foram: DR e as modalidades da vertente 'Desfolha química'. Adicionalmente, a modalidade DQ 30 foi uma das modalidades que apresentou uma floração mais tardia e mais curta, começando a vingar primeiro do que modalidades que começaram a florir mais cedo, como é o exemplo do DR. A nível de fitossanidade é preferível uma floração mais curta, pois esta fase é suscetível a doenças, muito pelo facto de a planta estar com os órgãos reprodutivos inteiramente expostos ao ambiente, sendo uma porta de entrada a doenças (como é o caso do fogo bacteriano). Neste âmbito concluiu-se que as modalidades DR e C tiveram uma floração mais longa, e, portanto, estiveram durante mais tempo expostas a possíveis contágios, porém deverá ter-se sempre em conta a localização do pomar e as previsões meteorológicas para as datas de floração.

A data da poda invernal deveria ser repensada, não se sugerindo uma nova data, mas sim, provavelmente, o ajustar temporalmente esta técnica cultural, tendo em conta alguns aspetos importantes, tais como, o local onde o pomar está implementado, o clima a que está sujeito e ter espírito crítico na execução da poda.

A modalidade DQ 60 deu origem a uma produção maior, assim como, uma maior produção unitária (kg/árvore) e maior produção normalizada (kg/cm² AST).

DQ 60 foi a modalidade que apresentou um melhor calibre de fruta produzida, especula-se que tal dever-se-á ao facto de não ter apresentado um elevado número de corimbos, teve a 2ª taxa de vingamento mais elevada o que sugere ter havido menor competição fisiológica. Também, relativamente, aos calibres >60, a modalidade DQ 60 dominou.

Após a análise de qualidade das frutas evidenciou-se que a modalidade DR apresentava valores de Brix (%) mais baixos, é de lembrar que a manipulação desta modalidade fez com que as plantas adquirissem uma dotação de água maior que as restantes, daí se especular que, provavelmente os sólidos solúveis ficaram mais diluídos. O Brix (%) foi mais elevado nas modalidades C, PN e vertente 'Desfolha química'.

A modalidade DQ 30 apresentou ter uma menor dureza, o que poderá significar que estava num estado de maturação mais avançado, porém os valores estavam dentro dos parâmetros de qualidade comercial segundo a Associação Nacional de Pera 'Rocha' (1997).

Globalmente, as melhores modalidades em termos de entrada e saída de dormência, sincronização de floração e produção parecem ser as modalidades da vertente 'Desfolha química'.

Futuramente sugere-se uma abordagem mais aprofundada relativamente à degradação enzimática do amido durante o processo de dormência e acumulação de hidratos de carbono de baixo peso molecular.

O conhecimento de expressões genéticas e/ou proteínas chave envolvidas na quebra de dormência, em conjunto com o contínuo desenvolvimento de novas ferramentas genéticas, serão uma mais-valia para a evolução de medidores de profundidade de dormência. A desvantagem está na especialização técnica de tais ferramentas.

As modalidades DR e DQ 60 foram as que apresentaram maiores hidratos de carbono nos 2 meses que antecederam a senescência das folhas, facto que pareceu influenciar positivamente a produção do ano seguinte na medida que foram as modalidades que conduziram à maior produção por árvore.

Dada a importância da gestão do pomar no período pós-colheita e as suas implicações na produção do ano seguinte, estes ensaios deverão ser repetidos para confirmação dos resultados obtidos. A crescente ausência de químicos de síntese com implicação no metabolismo das plantas exige a definição de itinerários técnicos mais ajustados às necessidades do pomar, nomeadamente, gestão da rega, da queda da folha e do período de poda. Esta abordagem permitirá maior produção de reservas em pós-colheita, senescência mais rápida e controlada, quebra de dormência e evolução fenológica mais sincronizada e, finalmente, crescimento dos frutos mais uniforme, traduzidos em produções mais regulares e com melhor qualidade.

6 Referências Bibliográficas

- Abreu F, 2018. Horas de frio acumuladas para fruteiras – atualização diária. In: Instituto Português do Mar e da Atmosfera. [<https://www.ipma.pt/pt/agrometeorologia/fruta>]. Consultado a 24 de julho de 2018.
- Agustí M, 2004. *Fruticultura*. Madrid, Espanha: Ediciones Mundi-Prensa. 71 – 73.
- ANP, 2006. Pera Rocha - Sabor de Portugal. In: Associação Nacional de Produtores de Pera 'Rocha'. (<http://www.perarocha.pt/custompages/showpage.aspx?pageid=899bd863-4a43-48a6-8bc9-46d5c9a6e552&m=b30l>). Consultado a 7 de junho de 2018.
- ANP, 2009. Caderno de Especificações da Pera Rocha DOP. In: Associação Nacional de Produtores de Pera 'Rocha', Cadaval: Portugal
- ANP, 1997. Caderno de Especificações Pera Rocha do Oeste – Denominação de Origem. In: Associação Nacional de Produtores de Pera 'Rocha', Cadaval: Portugal.
- Arnold AM, Young E, 1990. Growth and Protein Content of Apple in Response to Root and Shoot Temperature following Chilling. *Hortscience* **25**, 1583-1588.
- Barr HD, Weatherley PE, 1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences* **15**, 413 – 428.
- Bloesch B, Viret O, 2013. Stades phénologiques repères des fruits à pépins (pommier et poirier). *Arboriculture*, **45**, 128 – 131.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, **72**, 248 – 254.
- Campoy JA, *et al.*, 2011. Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review. *Scientia Horticulturae*, **130**, 357 – 372. 7
- Chow PS, Landhausser SM, 2004. A method for routine measurements of total sugar and starch content in woody plant tissues. *Tree Physiology* **24**, 1129 – 1136.
- Coelho TM, Filho NA, Lermen FH, 2015. Método para evitar a perda de umidade dos frutos. In: IX Encontro de Engenharia de Produção Agroindustrial. [http://www.fecilcam.br/anais/ix_eepa/data/uploads/5-engenharia-do-produto/5-01.pdf]. Consultado a 25 de setembro de 2018.
- Couto AA, 1979. Aspectos Pomológicos da Pereira 'Rocha'. *Divulgação Ministério da Agricultura e Pesca*, **1/79**, 1 – 21.
- Coville FV, 1920. The influence of cold in stimulating the growth of plants. *Botany*, **6**, 434 – 435.

De Melo-Abreu JP, Silva JM, Barba NG, 2005. Flowering date prediction in 'Rocha' pear under mild winter conditions. *Acta Hortic*, **671**, 177–182

Dennis FG, 1994. Dormancy—what we know (and don't know). *HortScience*, **29**, 1249–1255.

DGVA, 2018. *Produtos fitofarmacêuticos: Listas de Produtos Fitofarmacêuticos - Listagem de Produtos Fitofarmacêuticos autorizados, cancelados, alterações de nome comercial e titularidade*. (<http://www.dgv.min-agricultura.pt/portal/page/portal/DGV/genericos?generico=3666233&cboui=3666233>).

Consultado em 28 de maio de 2018.

Donato DB, 2003. *Métodos de amostragem e de determinação do teor de umidade da madeira em Tora*. Minas Gerais, Brasil: Universidade Federal de Viçosa, master thesis, 30 – 31.

Duarte JB. Biometria em genética e melhoramento de plantas: tendências e inquietações. In: Simpósio de atualização em genética e melhoramento de plantas: *A genética quantitativa e de populações no brasil*, 2010. Lavras, Brasil: Universidade Federal de Lavras, 47 – 60.

Erez A, 2000. Bud dormancy; phenomenon, problems and solutions in the tropics and subtropics. In: Erez, A. *Temperate Fruit Crops in Warm Climates*. Kluwer, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 17–48.

Fadón E., Herrero M., Rodrigo J., 2018. Dormant Flower Buds Actively Accumulate Starch over Winter in Sweet Cherry. *Plant Science* **9**, 1 – 10.

Faust M. *et al.*, 1997. Bud Dormancy in Perennial Fruit Trees: Physiological Basis for Dormancy Induction, Maintenance and Release. *HortScience* **32**, 623 – 629.

Faust M, 1989. *Physiology of Temperate Zone Fruit Trees*. Beltsville, Maryland: John Wiley & Sons, Inc.

Finetto GA, 2004. The Behaviour of Some Apple Rootstocks in Relation to the Chilling Requirement. *Acta Hort* **662**, 245 – 251.

Gomes PT, Silva JL, 2016. *Química Guia de Laboratórios*. Portugal, Lisboa: Maria Isabel Viseu, 8.

Hawerth FJ, Herter FG, Petri JL, Leite GB, Pereira JF, 2010. *Dormência em Frutíferas de Clima Temperado*. Brasil, Pelotas: Embrapa Clima Temperado.

Heide OM, 2008. Interaction of photoperiod and temperature in the control of growth and dormancy of *Prunus* species. *Scientia Horticulturae* **115**, 309-314.

Heide OM, Prestrud AK, 2005. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear. *Tree Physiology* **25**, 109-114.

Horikoshia HM, Sekozawaa Y, Kobayashib M, Saitob K, Kusanoa M, Sugayaa S, 2018. Metabolomics analysis of 'Housui' Japanese pear flower buds during endodormancy reveals metabolic suppression by thermal fluctuation. *Plant Physiology and Biochemistry* **126**, 134–141.

IPMA, 2018. Agrometeorologia. (<https://www.ipma.pt/pt/enciclopedia/agrometeorologia/index.html?page=info.produto.monitoriza.xml>). Consultado a 24 de julho de 2018.

Jesus SV, Marengo RA, 2008. O SPAD-502 como alternativa para a determinação dos teores de clorofila em espécies frutíferas. *Acta Amazonica* **38**, 815-818.

Khanizadeh S, Buszard D, Zarkadas CG, 1994. Seasonal variation of hydrophilic, hydrophobic, and charged amino acids in developing apple flower buds. *Journal of Plant Nutrition* **17**, 2025-2030.

Kruger NJ, (2009). The Bradford Method for Protein Quantitation. In: Walker JM, eds. *The Protein Protocols Handbook*. Totowa, NJ: Springer Protocols Handbooks. Humana Press, 17 – 24.

Lang GA, Early JA, Martin GC, Darnell RL, 1987. Endo-, para-, and ecodormancy: Physiological terminology and classification for dormancy research. *HortScience*, **22**, 371-377.

Leão MA, 2013. *Avaliação de Novos Sistemas de Produção de Pera 'Rocha' em Alta Densidade com Recurso à Modelação e à Integração de Processos Fisiológicos*. Lisboa, Portugal: Instituto Superior de Agronomia, tese de doutoramento.

Marques M, 2016. Ensaio de Bradford. [<http://knoow.net/ciencterravida/biologia/ensaio-de-bradford/>]. Consultado a 29 de março de 19.

Megazyme em <https://www.megazyme.com/>; Consultado a 20 de setembro de 2018.

Mendiburu F, 2018. HSD.test. In: RDocumentation. [<https://www.rdocumentation.org/packages/agricolae/versions/1.2-8/topics/HSD.test>]. Consultado a 08 de novembro de 18.

Pereira FA, 2015. *Análise do Setor no Período 2003 – 2013*. Lisboa, Portugal: Instituto Superior de Agronomia, master thesis.

Petrica M, 2018. *Doseamento de hidratos de carbono em abóbora manteiga (Cucurbita moschata)*. Lisboa, Portugal: Instituto Superior de Agronomia, master thesis.

Santos KC, Almeida DPF, 2016. Avaliação hedónica da textura de pera 'Rocha' após armazenamento sob diferentes regimes. In: IX Simpósio Ibérico de Maturação e Pós Colheita. [http://www.aphorticultura.pt/uploads/4/8/0/3/48033811/avalia%C3%A7%C3%A3o_hed%C3%B3nica_da_textura_de_pera_%E2%80%98rocha%E2%80%99_ap%C3%B3s_armazenamento_sob_diferentes_regimes.pdf]. Consultado a 25 de setembro de 2018.

Saure MC, 1985. Dormancy release in deciduous fruit trees. *Horticultural Reviews*, **7**, 239–300.

Sécio AL, 2014. *ANP:Relatório de Exportação/Expedição de Pera Rocha do* (<http://app.parlamento.pt/webutils/docs/doc.pdf?path=6148523063446f764c324679626d56304c334e706447567a4c31684a5355786c5a793944543030764e304e425453394562324e31625756756447397a51574e3061585a705a47466b5a554e7662576c7a633246764c7a41355a6d4d354d4749784c546c684d5755744e4459784d4330344e5459794c5463344d4451324e574e694d6d4a685a5335775a47593d&fich=09fc90b1-9a1e-4610-8562-780465cb2bae.pdf&Inline=true>). Consultado a 28 de maio de 2018

Soares J, Silva A., Alexandre J, 2011. *O livro da pera Rocha –Volume primeiro*. Cadaval, Portugal: Associação Nacional dos Produtores de Pêra Rocha (ANP)

Takemura Y, 2014. Bud Dormancy in Woody Fruit Species. In: C. B. Keyes and O. C. Lucero, Editors. *New Developments in Global Warming Reserach*. New York, USA: Nova Science Publishers, Inc, 117-131.

Trigueiros J, sd. *Tecnologias de Colheitas*. <http://www.spi.pt/documents/books/hortofruticolas/Wc7c19b72b6776.asp>; Consultado a 5 de abril de 2018

Vegis A, 1964. Dormancy in higher plants. *Annual Review of Plant Physiology*, **15**, 185-224.













Yu H, Luedeling E, Xu J, 2010. Winter and spring warming result in delayed spring phenology on the Tibetan Plateau. *PNAS*, **107**, 22151–22156.















Yemm EW, Willis AJ, 1954. The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *Biochemical Journal*, **57**, 508-514.

Anexos

I. Tabela com estados fenológicos respetivamente às pomóideas, macieira e pereira (Bloesch e Viret, 2013).

Code BBCH	Code Baggioolini	Pommier Stade repère (Gala)	Description	Poirier Stade repère (William's)
0 = Repos hivernal				
00	A		BOURGEON D'HIVER (dormance) Les bourgeons sont fermés et recouverts de leurs écailles protectrices.	
5 = Apparition de l'inflorescence				
51	B		GONFLEMENT DES BOURGEONS Premier gonflement visible du bourgeon floral; les écailles ont des taches claires et s'allongent.	
53	C		ECLATEMENT DES BOURGEONS Les extrémités des feuilles entourant les fleurs sont visibles.	
54	C3		OREILLE DE SOURIS Les extrémités des feuilles dépassent les écailles de 10mm, les premières feuilles se séparent.	
56	D		BOUTON VERT Les fleurs encore formées commençant à se séparer.	

Code BBCH	Code Baggiolini	Pommier Stade repère (Gala)	Description	Poirier Stade repère (William's)
5 = Apparition de l'inflorescence				
57	E		BOUTON ROSE Les sépales s'ouvrent légèrement, les pétales s'allongent et deviennent visibles.	
59	E2		BALLONNETS La plupart des fleurs forment avec leurs pétales un ballon creux.	
6 = Floraison				
61	F		DÉBUT FLORAISON Environ 10% des fleurs sont ouvertes.	
65	F2		PLEINE FLORAISON Plus de 50% des fleurs sont ouvertes, les premiers pétales tombent.	
67	G		FLORAISON DÉCLINANTE La plupart des pétales sont tombés.	
69	H		FIN FLORAISON Tous les pétales sont tombés.	

Code BBCH	Code Baggioini	Pommier Stade repère (Gala)	Description	Poirier Stade repère (Williams')
7 = Développement des fruits				
71	I		NOUVEAU Diamètre des fruits jusqu'à 10mm, chute physiologique des jeunes fruits.	
72	J		TAILLE MOISETTE Diamètre des fruits jusqu'à 20mm.	
74			STADE T Fruits dressés, la base du fruit et sa tige formant un T, diamètre des fruits jusqu'à 40mm.	
77			CROISSANCE DES FRUITS Les fruits ont atteint 70 % de leur taille finale.	
8 = Maturation des fruits				
81			DÉBUT MATURATION Les fruits ont atteint leur taille finale, la couleur spécifique de la variété apparaît.	
85			MATURITÉ AVANCÉE Intensification de la coloration spécifique de la variété.	
87-89			RÉCOLTE, PLEINE MATURITÉ GUSTATIVE Goût et consistance des fruits typiques de la variété.	

II. Fotos reais dos estados fenológicos observados

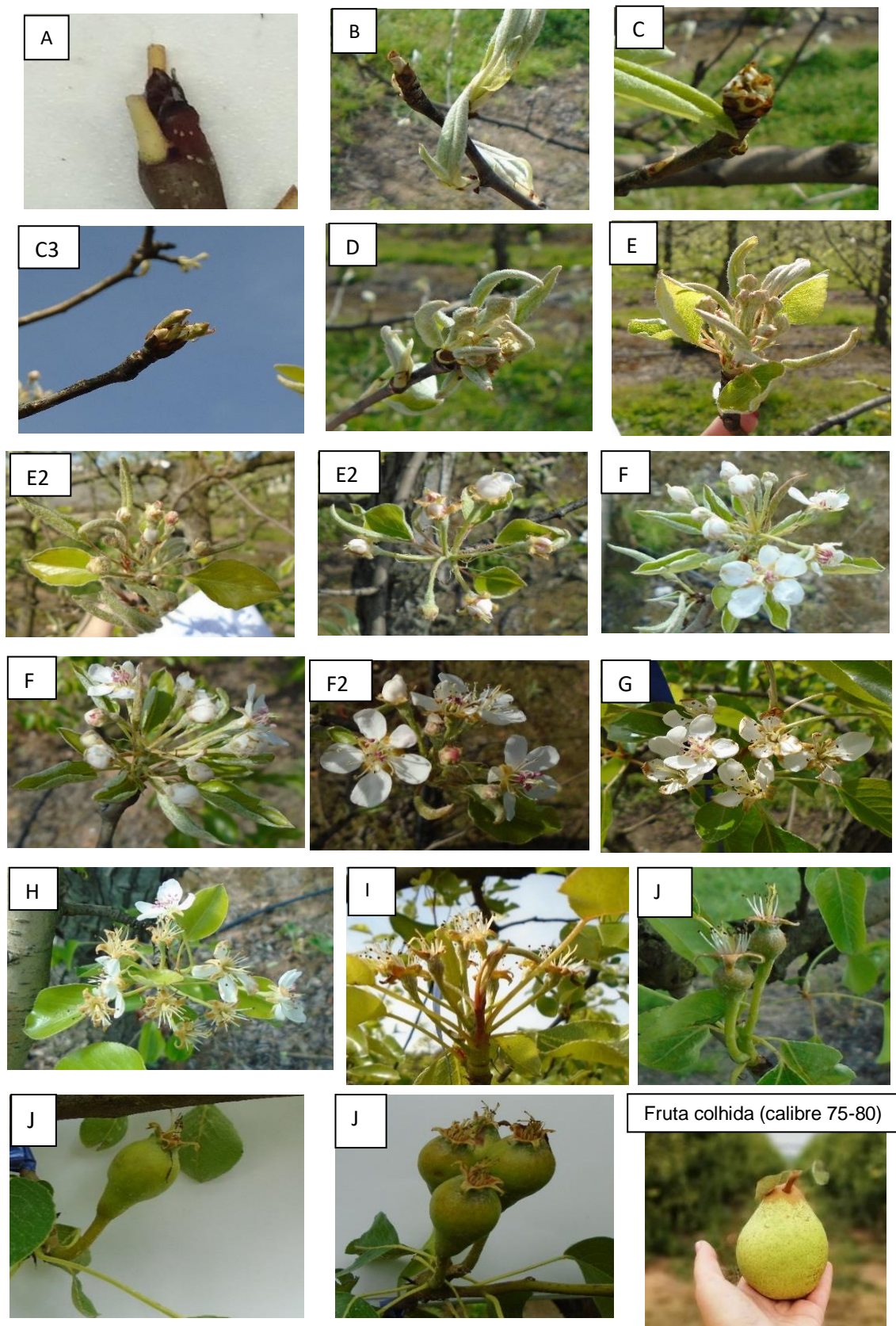


Figura 36 Fotos de corimbos das árvores marcadas no pomar da Quinta Nova, e respetivo estado fenológico.

III. Esquema da parcela em estudo

Talhão 9

Pereira - Rocha - Fertirrega

Ensaio Dormência

X	x	x	x	x	x	x	x	
C	c	c	c	c	c	c	c	
X	x	x	x	x	x	x	x	
X	x	x	x	x	x	x	x	
X	x	x	x	x	x	x	x	
X	x	x	x	x	x	x	x	
X	x	x	x	x	x	x	x	
X	x	x	x	x	x	x	x	
P	p	p	p	p	p	p	p	
X	x	x	x	x	x	x	x	
X	x	x	x	x	x	x	x	
X	x	x	x	x	x	x	x	
X	x	x	x	x	x	x	x	
X	x	x	x	x	x	x	x	
X	x	x	x	x	x	x	x	
c	C	c	c	c	c	c	c	
x	X	x	x	x	x	x	x	
x	X	x	x	x	x	x	x	
x	X	x	x	x	x	x	x	
x	<u>X</u>	x	<u>x</u>	<u>x</u>	<u>x</u>	x	x	
x	<u>X</u>	x	<u>x</u>	<u>x</u>	<u>x</u>	x	x	
x	X	x	x	x	x	x	x	
p	P	p	p	p	p	p	p	
x	X	x	x	x	x	x	x	
x	<u>X</u>	x	<u>x</u>	<u>x</u>	<u>x</u>	x	x	
x	<u>X</u>	x	<u>x</u>	<u>x</u>	<u>x</u>	x	x	
x	<u>X</u>	x	<u>x</u>	<u>x</u>	<u>x</u>	x	x	
x	<u>X</u>	x	<u>x</u>	<u>x</u>	<u>x</u>	x	x	
c	C	c	c	c	c	c	c	

x	X	x	x	x	x	x	x	x	H N I M A C ↑ S A H C O R S A R I E R E P	4 m	10 m
x	<u>X</u>	x	x			x	x	x			
x	<u>X</u>	x	x			x	x	x			
x	<u>X</u>	x	x			x	x	x			
x	<u>X</u>	x	x			x	x	x			
x	X	x	x	x	x	x	x	x			
p	P	p	p	p	p	p	p	p			
x	X	x	x	x	x	x	x	x			
x	X	x		x	x	x	x	x			
x		x				x	x	x			
x		x				x	x	x			
x		x				x	x	x			
x	X	x	x	x	x	x	x	x			
c	C	c	c	c	c	c	c	c			
x	X	x	x	x	x	x	x	x			
x		x				x	x	x			
x		x				x	x	x			
x	X	x				x	x	x			
x		x				x	x	x			
x	X	x	x	x	x	x	x	x			
p	P	p	p	p	p	p	p	p			
x	X	x	x	x	x	x	x	x			
x		x	x			x	x	x			
x		x	x	x	x	x	x	x			
x		x				x	x	x			
x		x				x	x	x			
x	X	x	x	x	x	x	x	x			
c	C	c	c	c	c	c					
x	X	x	x	x	x	x					

Legenda :

Árvores da variedade Rocha

x

 Polinizadora Passe Crassane

P

Polinizadora Carapineira	c	Compasso utilizado	4,5 m x 2 m
Croqui	350 Rocha / BA 29 32 Carapineira / OHF 333 31 P. Crassane / BA 29	Dormência	87 Rocha / BA 29 8 Carapineira / OHF 333 8 P. Crassane / BA 29
Área dos dois ensaios A + B =	12100 m ²	Furo	✕

Plantação com borbulha dormente em **18 / 02 / 98**

Modalidades

- █ – ‘Rega 1- Dobro da dotação da rega’ – linha 4
- █ – ‘Rega 2- Corte da rega’ – linha 5
- █ – ‘Desfolha 1 – Pulverização com desfolhante 30 dias após a colheita’ – linha5
- █ – ‘Desfolha 2 – Pulverização com desfolhante 60 dias após a colheita’ – linha4
- █ – Controlo – linha 6
- █ – Poda 1 – linha 6
- █ – Poda 2 – linha 8
- █ – Poda 3 – linha 8

IV. Datas de recolha de amostra e respetivos dados meteorológicos.

Quadro 28 Dados meteorológicos dos dias de recolha de amostras

		Med Ar 1,5m	Máx Ar 1,5m	Mín Ar 1,5	desvio padrão	Hum Rel Méd	Int Méd Vento	Temp Relva Mín	Duração Precipit.	Quantid. Precipit.	Radiação Gl. Total
		°C	°C	°C	°C	%	m/s	°C	min.	mm	KJ/m2
		Temp do ar média	Temp do ar máxima	Temp do ar mínima	Temp	HR_ média	média	Temp +05 mínima	RRR_ duração	RRR_ quantidade	RG_toral
DATA DE RECOLHA DE AMOSTRAS											
15/09/2017	P0	19,32	19,75	18,83	0,65	71,04	2,93	22,03	0,54	0,00	8888,50
22/09/2017	P1	17,82	18,57	17,30	0,89	78,54	1,92	19,50	0,00	0,00	5257,50
29/09/2017	P2	17,58	18,41	16,74	1,18	76,25	1,10	19,78	0,96	0,00	8023,58
06/10/2017	P3	17,01	17,94	16,12	1,29	72,67	1,00	18,33	0,00	0,00	7790,57
13/10/2017	P4	17,76	18,29	17,26	0,72	83,58	1,04	18,95	0,00	0,00	5313,87
27/10/2017	P5	18,43	19,56	17,36	1,56	65,50	0,78	17,11	0,00	0,00	5736,50
10/11/2017	P6	9,44	10,31	8,63	1,19	77,08	0,88	8,50	0,00	0,00	5149,17
23/11/2017	P7	18,05	18,45	17,62	0,59	74,63	2,59	16,60	19,00	0,29	0,29
07/12/2018	P8	7,08	7,86	6,30	1,10	76,42	0,40	5,61	0,00	0,00	3665,25
22/12/2017	P9	6,36	7,28	5,60	1,19	85,50	0,57	5,00	0,00	0,00	3773,42
08/01/2018	P10	6,59	12,40	0,20	8,63	82,50	1,56	-0,90	0,06	0,40	0,00
25/01/2018	P11	9,83	14,10	5,10	6,36	87,67	1,77	3,40	0,40	18,80	0,00
07/02/2018	P12	4,03	12,40	-3,20	11,03	72,95	1,34	-5,00	0,00	0,00	0,00
28/02/2018	P13	14,31	16,60	12,40	2,97	91,42	2,40	12,10	0,54	30,30	0,00
12/03/2018	P14	12,77	17,40	7,20	7,21	71,29	2,32	5,00	0,51	0,20	160650,00
26/03/2018	P15	11,18	16,30	3,40	9,12	70,79	2,17	2,30	0,03	0,00	243794,00

V. Caracterização meteorológica do local de ensaio

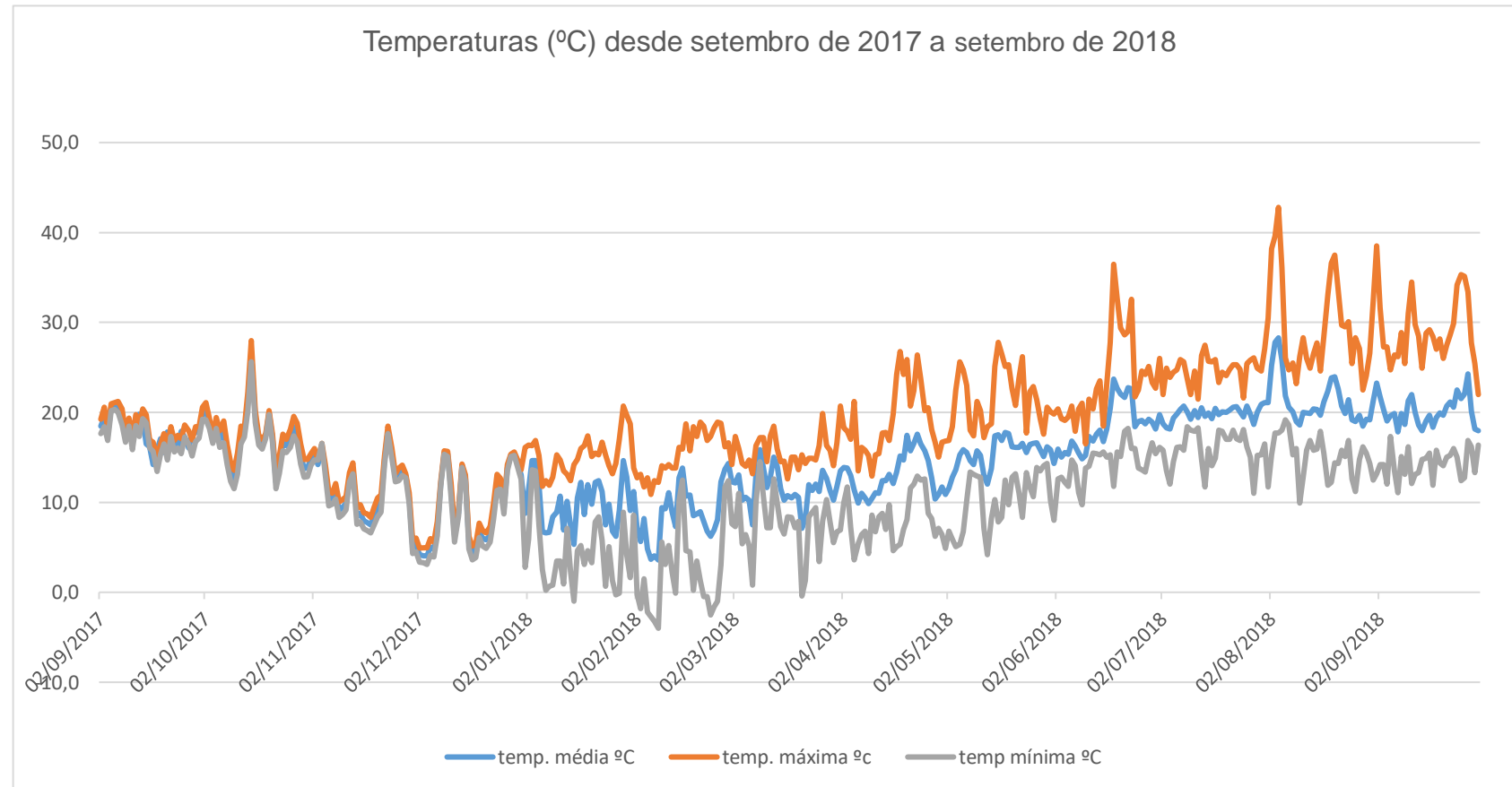


Figura 37 Temperaturas - °C (média, máxima e mínima) entre setembro de 2017 a setembro de 2018.

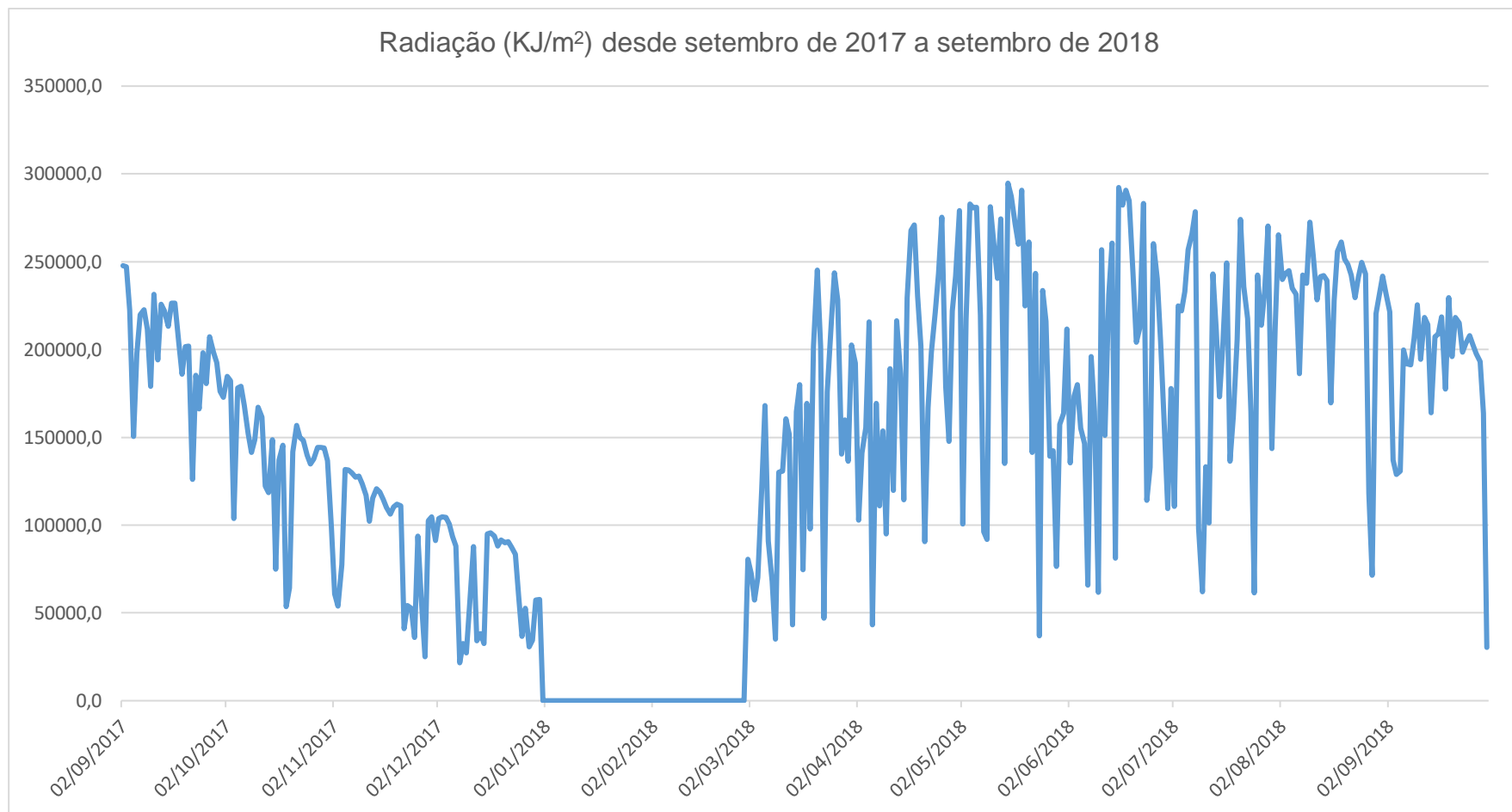


Figura 38 Radiação (KJ/m²) entre setembro de 2017 a setembro de 2018.

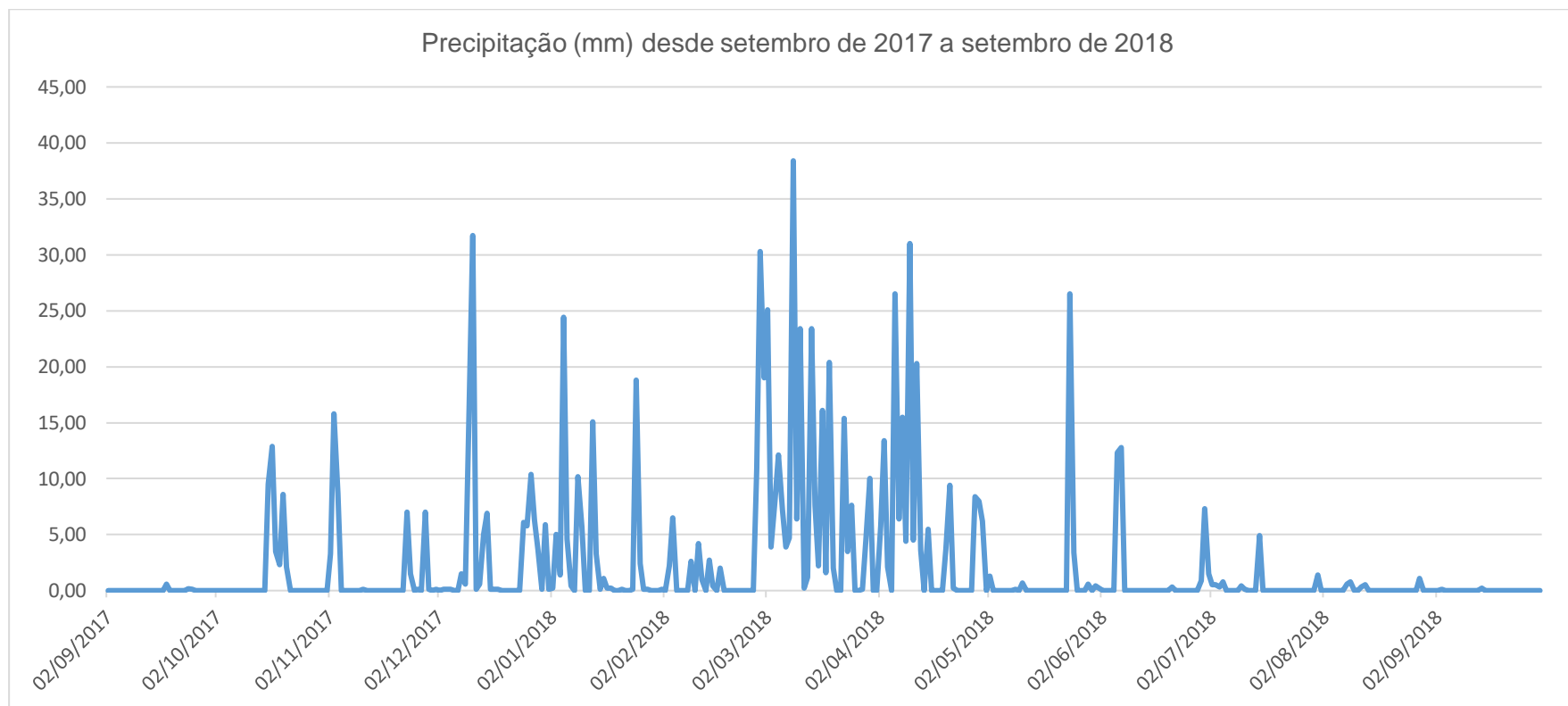
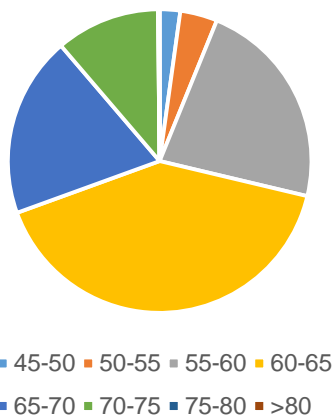


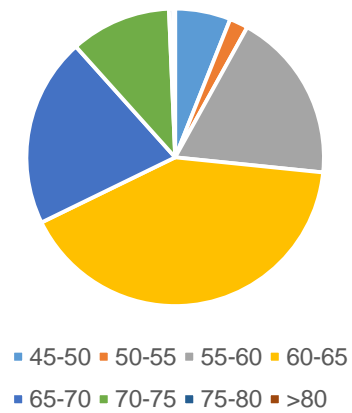
Figura 39 Precipitação (mm) entre setembro de 2017 a setembro de 2018.

VI. Gráficos percentuais da quantidade de frutos colhidos por calibre.

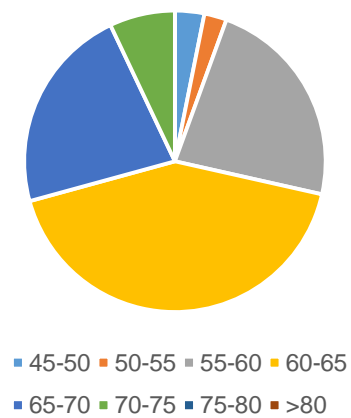
Dobro da dotação da rega



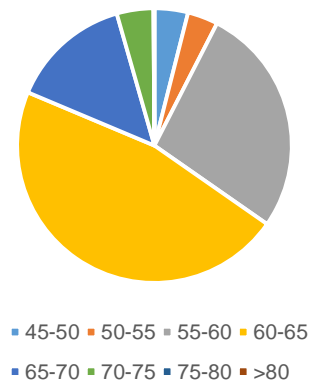
Controlo



Corte da rega



Desfolha 60 dias após a colheita



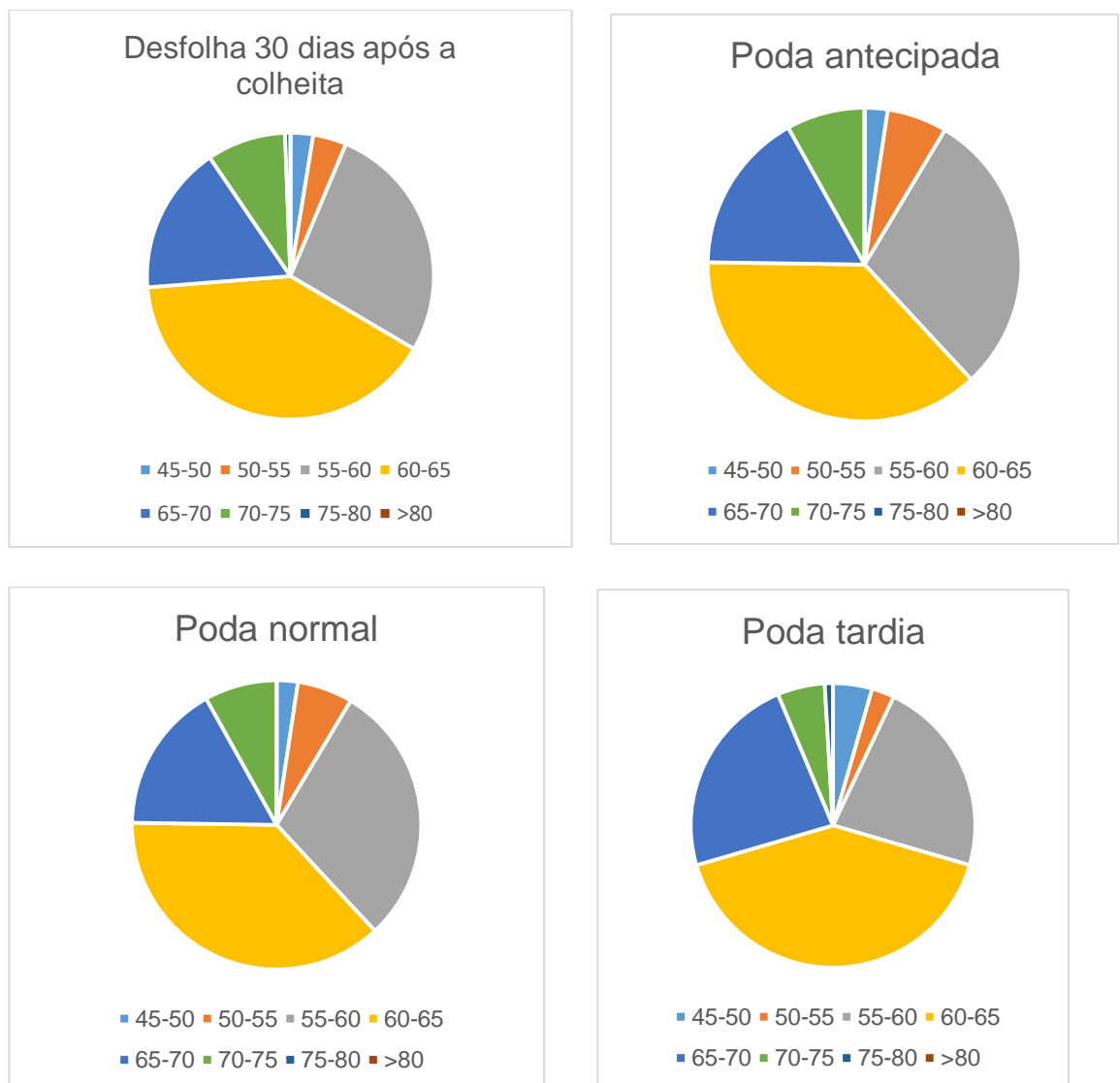


Figura 40 Percentagem de quantidade de frutos colhidos por calibre em cada modalidade.

VII. Ficha técnica do desfolhante químico utilizado na vertente desfolha.

COPPERMIX®



A fracção quelatada do cobre penetra rapidamente nas folhas e transloca-se no xilema e floema (com movimento ascendente e descendente) até às jovens folhas e frutos. Por ter na sua composição altos teores de cobre, o COPPERMIX tem uma dupla acção. COPPERMIX permite prevenir e corrigir de forma rápida e eficaz estados de deficiência devido a desequilíbrios e/ou deficiências na assimilação de cobre.

O cobre presente no COPPERMIX actua como catalisador de muitas reacções enzimáticas, faz parte da composição de numerosas proteínas e é um catalisador no sistema de transporte de electrões na fotossíntese, razão pela qual promove também o uso e eficiência do azoto pela planta.

Aumenta a permeabilidade das membranas celulares e é um estabilizador de componentes celulares, influi na uniformidade da floração e da frutificação, a sua deficiência severa inibe a reprodução das plantas (reduz a produção de sementes e o pólen é estéril).

O cobre presente no COPPERMIX permite por sua vez, mitigar os danos que possam ser provocados por doenças fúngicas e bacterianas.

COMPATIBILIDADES

O COPPERMIX é compatível com a maioria dos fertilizantes e produtos fitofarmacêuticos, excepto enxofres, sulfatos e produtos muito alcalinos (pH > 8).

Recomenda-se fazer uma prova antes da mistura e se possível uma prova de sensibilidade à cultura.

Não utilizar com temperaturas inferiores a 8°C, nem tratar plantas em situações de stress.

- Desenvolvimento Frutos - 1,5 Kg/ha

OLIVAL

- Até ao Início Vegetativo - 1,5 a 2 Kg/ha
- Desenvolvimento Frutos - 1,5 a 2 Kg/ha
- Pós Colheita - 2 a 2,5 Kg/ha

PRECAUÇÕES

Lavar as mãos cuidadosamente após manuseamento. Manter fora do alcance das crianças. Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto. Usar vestuário de protecção. EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico. Enxaguar a boca. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. Caso a irritação ocular persista: consulte um médico. Armazenar em lugares frescos e secos e manter longe de temperaturas extremas. Conservar unicamente no recipiente de origem. Utilizar o produto conforme as instruções da etiqueta. Em caso de dúvida, contactar pessoas técnicas autorizadas. A utilizar apenas em caso de comprovada necessidade. Não ultrapassar as doses recomendadas.

NOTA: Os resultados da aplicação deste produto são susceptíveis de variar pela acção de factores que estão fora do nosso domínio, pelo que apenas nos responsabilizamos pelas características previstas na lei e pelas características previstas na lei.



PERIGO



ADUBO CE

FITOPROTECTORES